

**Vitalitätskriterien bei
maschinell perfundierten Hundenieren**

Hannes Wurzer

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551925_0095

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. G. Heberer /
vormals Professor Dr.Dr.h.c.R.Zenker)

V i t a l i t ä t s k r i t e r i e n
bei
maschinell perfundierten Hundenieren

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

Hannes Wurzer
aus
München

München 1972

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter: Professor Dr.Dr.H.Fichtlmaier

Mitberichterstatter: Professor Dr.G.Heberer

Dekan: Professor Dr.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 24.September 1974



Inhaltsverzeichnis

=====

A	Einleitung	S. 1
	Definition: Vitalitätskriterien - bisher verwandte Methoden - Problem- stellung	
B	Material und Methodik	S. 4
	1) operativer Teil	S. 4
	Anästhesie - Nephrektomie - Transplantation	
	2) Konservierung	S. 5
	Konservierungsgerät - Perfusat	
	3) Laboruntersuchungen	S. 7
	allgemein - spezielle Meßmethoden	
	4) Versuchsprogramm	S. 9
C	Ergebnisse	S. 10
	1) Transplantationsergebnisse	S. 10
	2) Perfusionsdaten	S. 12
	Enzyme (LDH, GOT, ICDH, LAP, G1DH, alk.u.saure Phosp., β -Gluc.)	
		S. 12
	Perfusionsdruck	S. 20
	Gewicht	S. 21
	K^+ -Konzentration,	
	Osmolarität	S. 21
	pH	S. 23
	Laktat/Pyruvat-Quotient	S. 23
	Stoffwechselmetabolite	S. 25

D	Diskussion	S. 27
1)	Ergebnisse	S. 27
	Enzyme: Gewebegehalt	S. 27
	Enzymübertritt	S. 28
	konservierungstechnische	
	Parameter	S. 32
	Perfusionsdruck	S. 34
	Gewicht	S. 38
	K ⁺ , Osmolarität	S. 39
	pH	S. 41
	Laktat/Pyruvat	S. 42
	Stoffwechsel (O ₂ -Verbrauch, Metabolite)	S. 45
2)	technische- und Meßfehler	S. 48
E	Zusammenfassung	S. 50
F	Anhang: Möglichkeiten der enzymatischen Diagnostik einer Abstoßung bei Human-Nierentransplantation	S. 54
G	Literaturverzeichnis	S. 56

A Einleitung:

Das Ziel jeder Organkonservierung ist die Erhaltung eines voll funktionsfähigen Organs. In den letzten 16 Jahren hat sich die Konservierung von Nieren von 4 Stunden auf 72 h und länger durch entsprechende Verbesserungen der Konservierungsmethoden ausgedehnt. Als einige wesentliche Techniken hierfür seien die hypotherme Dauerperfusion nach Belzer, hypotherme Aufbewahrung in künstlichem Medium (z.B. Collins), mit Überdruck (Manax, van Zyl) bzw. Kombinationen derselben genannt. Um die Konservierung derart zu verbessern, wurden bisher vor allem die Art und Zusammensetzung des Perfusats, das Flow-Volumen und die Pulsform sowie die optimale Sauerstoffspannung untersucht. Zur Verlängerung der Konservierungszeiten müssen nun in verstärktem Maße der Stoffwechsel der Nieren, die anfallenden toxischen Abbauprodukte, das Verhältnis von Perfusatmenge zu Organgewicht und die Inertheit der verwendeten Materialien geprüft werden.

Ein anderes Ziel der Organkonservierung ist es, den Funktionszustand des Organs noch in vitro abschätzen zu können. Wenn nämlich ein Spenderorgan vor der Entnahme irreversible ischämische Schäden oder sonstige Verletzungen erlitten hat, wird trotz optimaler Konservierung die Erfolgsquote gemindert und nur das Operationsrisiko für den Patienten erhöht. Daneben muß auch eine Schädigung des Organs während der Konservierung diagnostiziert werden können und dabei nach Möglichkeit die Ursache derselben erfaßt und beseitigt werden. Hierfür werden Vitalitätskriterien benötigt; da sie "die Kapazität einer biologischen Einheit lebendig zu bleiben" messen sollen - siehe (3; 54; 97; 131; 134; 147) -, müssen sie neben der strukturellen Integrität des Organs auch seine physiologische Funktion bzw. deren Wiederaufnahme erfassen. Daraus folgt zum einen, daß viele für die Gewebekultur etc. gültigen Parameter (z.B. Mitosefähigkeit, DNS-Gehalt) für die Organkonservierung nicht anwendbar sind, zum anderen, daß die verwendeten Parameter

eine sehr differenzierte Beurteilung benötigen (Struktur und/oder Funktion): am Beispiel Stoffwechsel demonstriert, kann der Funktionsstoffwechsel bereits eingestellt sein, während der Basalverbrauch noch unauffällig ist.

Um den Funktionszustand des konservierten Organs zu erfassen, wären direkte Funktionstests (Resorptions- oder Sekretionstests) bzw. Clearance-Messungen am geeignetsten: sie erbringen aber wegen der niedrigen Temperaturen keine sinnvollen Ergebnisse mehr (siehe auch (70)). So bauen alle Vitalitätskriterien auf indirekten Methoden auf: von den bisher in der Literatur aufgeführten sei an erster Stelle der Perfusionsdruck bzw. der Flow genannt, dem nach Belzer eine enge Korrelation zum Transplantationsergebnis zukommt (9; 13; 14), wozu aber sehr widersprüchliche Angaben zu finden sind (5; 28; 32; 54; 59; 70; 76; 90; 93; 121; 146; 152). Eine gewisse Beziehung wurde auch der Gewichtszunahme des Organs in vitro (59; 76; 81; 89; 111) sowie dem Verlauf des Oberflächen-pH (5; 33; 82) zugesprochen. Außerdem wurde diskutiert, ob bei Vorliegen einer Zellnekrose die freiwerdende intrazelluläre K^+ -Konzentration verwertbar wäre (5; 97; 134). Ferner wurde bei mehreren, teilweise allerdings nicht vergleichbaren Versuchen (Effluatmessungen etc.) eine Korrelation zwischen Enzymgehalt des Perfusats und Transplantationsergebnis gefunden (9; 10; 64; 89). An direkten Stoffwechseltests sei ein Test von Terasaki (95; 96; 136) erwähnt, bei dem das Redoxsystem einer Gewebibiopsie mittels Tetrazolium-bromid getestet wird; die sehr unspezifischen Ergebnisse konnten von neueren Untersuchungen (Hardner, Scott) nicht bestätigt werden. Andere histochemische Methoden (3; 44) oder weitere metabolische Messungen (z.B. O_2 -Verbrauch) (54; 68; 70; 130) lieferten ebenfalls nur sehr beschränkte Aussagen. Ein in-vitro-Faktor von Abbott (1; 2), der funktionelle und strukturelle Parameter umfaßt, konnte für die Organkonservierung noch nicht als Vitalitätskriterium verwendet werden.

Um zur Lösung dieser Probleme beizutragen, sollten die Versuche folgende Fragen klären:

Welche Vitalitätskriterien liefern eindeutige Aussagen hinsichtlich des Transplantationsergebnisses?

Sind sie sinnvoll miteinander zu koordinieren?

Hierfür wurden die einzelnen Methoden, wie folgt, aufgeschlüsselt:

1) Enzymmessungen:

- a) Korrelieren die Absolutwerte und/oder die Verläufe der Enzymwerte im Perfusat mit dem Transplantationsergebnis?
- b) Läßt sich durch die Enzyme die Schädigung genauer parenchymal oder intrazellulär lokalisieren? (GIDH, ICDH, LAP, β -Gluc., alk.u.saure Phosp.)
- c) Welche Faktoren beeinflussen die Enzymausschüttung?

2) Perfusionsdruck, Gewicht:

- a) Korreliert der Absolutwert und/oder Verlauf des Perfusionsdrucks mit dem Transplantationsergebnis?
- b) Welche Aussage liefert der Verlauf des Organgewichts?
- c) Von welchen Faktoren hängen diese Parameter ab?

3) K^+ -Konzentration:

- a) Ist die K^+ -Konzentration im Perfusat als Vitalitätskriterium verwendbar?
- b) Spielen osmolare Faktoren eine Rolle?

4) pH:

- a) Welche Abhängigkeiten bestehen vom pH?
- b) Korreliert ein pH-Abfall mit einem Anstieg saurer Stoffwechselprodukte?

5) Laktat, Pyruvat, Stoffwechselfractionen:

- a) Läßt sich das Verhältnis anaerober/aerober Stoffwechsel als Vitalitätskriterium verwenden? Hierfür wurden Laktat und Pyruvat herangezogen (siehe (66)).
- b) Läßt sich die Umsatzrate einzelner Stoffwechselfractionen (Glukose, ATP, Triglyceride, Fettsäuren) als Vitalitätskriterium verwenden?

B Material und Methodik

1) operativer Teil

Die Experimente wurden mit Bastardhunden von 20 - 28 kg durchgeführt; eine besondere Diät wurde nicht gegeben; die Hunde hatten 24 h vor Operation nur noch freien Zugang zu Wasser.

Zur Prämedikation wurden Thalamonal^(R) in einer Dosis von 0,2 ml/kg Körpergewicht i.m. sowie 0,5 ml Atropin s.c. injiziert. Der initialen Narkose mit 0,1 - 0,3 ml/kg Pentobarbiturat (Nembutal^(R)) i.v. folgte die intratracheale Intubation. Nach Relaxierung mit 2 - 3 ml Suxamethonium (Lysthenun^(R)) wurden die Hunde mit Wechseldruck beatmet, Sauerstoff zu Lachgas im Verhältnis 1:1; Atemvolumen 500 ml/min. kg Körpergewicht. An Infusionen wurden während einer Operation 750 - 2000 ml Ringer- oder 5 % Lävulose-Lösung gegeben, dazu nach Anastomosennaht 150 ml 20 % Mannit. Zur Infektionsprophylaxe wurden postoperativ 3 g Totocillin/die sowie Infusionen nach Bedarf verabreicht.

Bei der Nephrektomie wurden mit einem 15 - 20 cm langen Mittelschnitt Ober- und Mittelbauch eröffnet, und eine Niere in üblicher Weise mobilisiert und freipräpariert. Nur Nieren ohne Pol- oder aberrierende Gefäße sowie ohne krankhafte Veränderungen wurden verwendet. Nach Durchtrennung der freipräparierten vasa renalia und des Ureters wurde die Niere sofort mit einer 4° C kalten Perfusionslösung gespült, die folgende Bestandteile aufwies: 500 ml Ringer-Mannit, 2500 E. Heparin, 100 mg Procain, 7 meq NaHCO₃. Bei klarem Effluat wurde die Niere nach Resektion des hilären und kapsulären Fetts an das Konservierungssystem angeschlossen. Unterbindung der Gefäße sowie schichtweiser Wundverschluß in üblicher Weise.

Bei der Transplantation wurde mit einem ca. 10 cm langen medio-lateralen Schnitt die kontralaterale fossa iliaca eröffnet. Je nach Größe der zu anastomosierenden Gefäße wurden die vasa iliaca, die vasa sacralia oder Nebenäste aufgesucht, freipräpariert und unterbunden. Vor der Anastomosennaht wurde die Niere nochmals mit obiger Perfusionslösung gespült. Die Venennaht erfolgte in End-zu-End-Anastomose in fortlaufender Naht, die Arteriennaht ebenfalls als End-zu-End-Anastomose in Einzelkopfnaht. Nahtmaterial: Mersilene 5-0. Die kalte Ischämie betrug 30 - 52 min. Zur Ureteranastomose wurde nach Politano-Leadbetter die Blase inzidiert, lateral davon in einem schrägen Kanal der Ureter eingeführt, gespalten, und die Zipfel mukös-muskulär vernäht. Schichtweiser Verschuß der Blase mit Chromcat 4-0. Sofortige kontralaterale Nephrektomie; schichtweiser Wundverschluß.

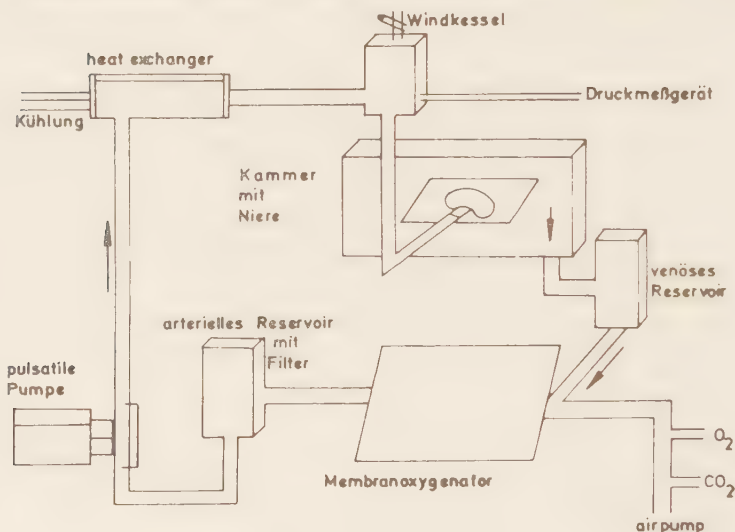
Die postoperative Funktion wurde mit Isotopennephrogrammen, über die gesondert berichtet wird (Kranzfelder) sowie durch Kreatininmessungen geprüft.

Daneben wurden für direkte Clearance-Messungen "Halsnieren" nach Reinhardt (116) angelegt, wobei durch einen medialen Schnitt die Carotiden bzw. venae iugulares aufgesucht, freipräpariert und mit den Nierengefäßen anastomosiert wurden; darauf wurden über 6 h Urinvolumen gesammelt, und bei konstanter Zufuhr von PAH und Inulin über art.femoralis-katheder entsprechende Clearance-Messungen vorgenommen.

2) Konservierung

Konservierungsgerät: Als Perfusionsgerät diente das von Belzer entwickelte Gerät Belzer-Li 400 (Life Corporation) (13; 14); Aufbau siehe Skizze

SCHEMA DES KONSERVIERUNGSSYSTEM NACH BELZER



Schema 1

Das System wurde 1 h vor Operationsbeginn mit 1000 ml Plasma - Aufbereitung nachfolgend - gefüllt; die Hypothermie von $8 - 10^{\circ} \text{C}$ wurde durch eine dem Nierenparenchym direkt anliegende Thermosonde kontrolliert. Die O_2 -Versorgung über einen Membranoxygenator erbrachte mittels air-pump und direktem O_2 (ca. 1,5 l/min), wenn nicht anders angegeben, eine Sauerstoffspannung von 160 - 200 mm Hg. CO_2 wurde nach Bedarf (ca. 2-3 Vol %) zugeleitet, wodurch sich ein pH von 7,3 - 7,6 einstellte. Die Frequenz der Pumpe wurde auf 60 Schläge/min., der systolische Druck beim Einlegen der Niere auf 60 mm Hg eingestellt; die Pulsamplitude betrug 20 mm Hg, der Flow 0,8 - 1,5 ml/min. g Nierengewicht. Die Registrierung des Drucks erfolgte permanent durch ein im Nebenschluß befindliches Statham-Druckgerät.

Perfusat: Hierfür diente Hundeplasma, das nach der Methode von Belzer aufbereitet war (13, 14): Hunde wurden über art. femoralis-katheter entblutet, das in Vakuumflaschen mit ACD (acid-dextrose-citrat) stabilisierte Blut in der Blutbank zu Plasma umgearbeitet; der ACD-Stabilisator wies aber nur 300 mg % Glukose auf gegenüber den in U.S.A. gebräuchlichen mit 1 700 mg % (5; 27; 32). Nachdem das Plasma bei -20°C völlig eingefroren gelagert war, wurde es bei Bedarf rasch in einem Wasserbad von $40 - 60^{\circ}\text{C}$ auf ca. 10°C aufgetaut, bei eventuell vorhandener Trübung mit 4 000 U 10min. lang zentrifugiert und dann unter Beimengung folgender Zusätze (jeweils auf 1 000 ml Plasma) in das sterile Filtersystem gefüllt: 1 g KCl; 0,8 g MgSO_4 ; 10^6 E. Penicillin; 3 g Glukose; 80 E. Insulin; 25 mg Corticosteroide (Solu-Decortin H^(R)); 100 ml aqua dest.. Änderungen siehe Versuchsprogramm. Das Gemisch wurde dann mit 0,5 atü Druck durch das Filtersystem (Millipore^(R)) gepreßt, dessen wesentliche Bestandteile ein Vorfilter sowie Cellulose-Acetat-Filter mit 1,22 μ , 0,45 μ und 0,22 μ Porengröße darstellen. Das gefilterte Perfusat (ca. 20 % Volumenverlust) wies im allgemeinen folgende ionale Konzentrationen auf: Osmolarität 344 ± 23 mosmol/l; Na^+ 137 ± 11 meq; K^+ $14,0 \pm 2,4$ meq; Proteingehalt: $3,2 \pm 0,5$ g %.

3) Laboruntersuchungen

Die Proben für die Analysen wurden in sterilen Spritzen in einem 4 - 6 h Rhythmus abgenommen; meist sofortige Verarbeitung; die maximale Aufbewahrungsdauer bei 4°C betrug 12 Stunden. Die genaue Zahl der Messungen eines Parameters kann der Versuchsanordnung entnommen werden. Im einzelnen wurden folgende Meßmethoden verwandt:

- a) osmolare Parameter: Die Bestimmung von Na^+ und K^+ erfolgte mit einem allgemein gebräuchlichen Zeiss-Flammenphotometer, die der Osmolarität mit einem Gefrierpunkt-Osmometer.
- b) pH: der pH wurde mit allgemein üblichen pH-metern bestimmt.

- c) Gewicht: das Nierengewicht wurde zu Beginn und Ende der Perfusion mit einer Waage von 2 g Genauigkeit gemessen.
- d) Enzyme, Stoffwechselprodukte: die Analytik erfolgte durch photometrische Reaktion und Messung (Zeiss-Photometer mit durchlaufender Wellenlänge); hierzu wurden fertige, allgemein gebräuchliche Testpackungen (Fa. Boehringer, Mannheim bzw. Fa. Merck: Eichpräparat β -Glucuronidase) verwandt. Ansonsten standen die üblichen Laboreinrichtungen zur Verfügung. Im einzelnen wurden gemessen:

Laktatdehydrogenase (LDH) E.C. 1.1.27

Meßprinzip: $\text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Laktat} + \text{NAD}^+$

" α -Hydroxybutyratdehydrogenase" (α -HBDH)

Meßprinzip: α -Ketobutyrat + $\text{NADH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \alpha$ -Hydroxybutyrat + NAD^+

Isocitratdehydrogenase (ICDH) E.C. 1.1.1.42

Meßprinzip: $\text{D-Isocitrat} + \text{NADP}^+ \rightleftharpoons \alpha$ -Ketoglutarat + $\text{CO}_2 + \text{NADPH} + \text{H}^+$

Phosphatasen (saure, alkalische) E.C. 1.4.1.2

Meßprinzip: $\text{p-Nitrophenylphosphat} \rightleftharpoons \text{p-Nitrophenol} + \text{P}$

Glutamatdehydrogenase (GLDH) E.C. 1.4.1.2

Meßprinzip: α -Ketoglutarat + $\text{NAD}^+ + \text{NH}_4^+ \rightleftharpoons \text{L-Glutamat} + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$

Glutamatoxalattransaminase (GOT) E.C. 2.6.1.1

Meßprinzip: $\text{L-Aspartat} + \alpha$ -Ketoglutarat $\rightleftharpoons$ L-Glutamat + Oxalacetat; Oxalacetat + $\text{NADH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons$ Malat + NAD^+

β -Glucuronidase (β -Gluc.) E.C. 3.2.1.31 (45, modifiziert)

Meßprinzip: $\text{p-Nitrophenyl-gluc.} \rightleftharpoons \text{p-Nitrophenol} + \text{Gluc.}$

Leucinaminopeptidase (LAP) E.C. 3.4.1.2 (144)

Meßprinzip: $\text{L-Leucin-p-nitranilid} \rightleftharpoons \text{p-Nitrilin} + \text{Leucin}$

Laktat, Pyruvat:

Meßprinzip: $\text{L-Laktat} + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+$ bzw. Umkehrung

Glukose: GOD-Methode

ATP: nach Jaworek

Neutralfette: nach Eggstein

Eiweiß: Biuretreaktion

Gesamtlipide: nach Zöllner

Unveresterte Fettsäuren:
nach Trout

Weitere Einzelheiten hierzu siehe (16).

An statistischen Methoden wurden die Mittelwert-Berechnung und die s-Bereiche nach Gauß oder einer freien Normalenverteilung verwandt, für Kurvenvergleiche und Signifikanztests der Student-t-Test, soweit möglich, oder der U-Test nach Mann, Wilcoxon und Widney; in Einzelfällen wurde der chi-Test herangezogen.

4) Versuchsprogramm:

Gruppe A: Kontrollgruppe von 12 Nieren, von denen 8 über 48 h, die anderen 4 Nieren über 72 h perfundiert wurden.

In den übrigen Versuchsgruppen wurden experimentelle Veränderungen gesetzt, die teilweise zu Nierenschäden führten, um die Vitalitätskriterien und die Auswirkungen der verschiedenen Parameter zu untersuchen.

Gruppe B: Schädigung durch lange Konservierung: 6 Nieren wurden zwischen 96 und 112 h perfundiert.

Gruppe C: Ischämische Schädigung: 3 Nieren wurden 4 h lang hypotherm bei 4°C gelagert, bevor sie perfundiert wurden, 3 weitere 1 h lang bei warmer Ischämie von 25°C; die Perfusionsdauer betrug zwischen 24 und 36 h.

Gruppe D: Sauerstoffmangel: Bei 6 Nieren wurde die Sauerstoffspannung vorher variiert, und zwar bei 3 Versuchen auf 50 - 80 mm Hg, bei den anderen auf 450 mm Hg (Toxizität?); ferner wurde bei 3 Versuchen mit einem pO_2 von 140 mm Hg durch einen reduzierten Flow ein Sauerstoffmangel (Hypovolämie) erzeugt. Die Perfusionsdauer betrug 48 h.

Gruppe E: Schädigung durch Azidose / Alkalose: Bei 6 Nieren wurde während der 48-stündigen Perfusion der pH-Bereich zwischen 6,7 - 8,0 variiert.

Gruppe F: Osmolarität: In 4 Versuchen wurde ein Plasma mit einer Osmolarität von 450 bzw. 280 mosmol/l sowie einem Corticoidspiegel von 10 mg % verwendet; die Perfusionsdauer betrug 36 - 48 h.

Die übrigen Perfusionsbedingungen waren mit den früher beschriebenen identisch.

C Ergebnisse

I Transplantationsdaten:

Die Funktionsergebnisse sind in Tab. 1 zusammengefaßt. Eine Niere wurde als vital bezeichnet, wenn sie nach Anastomosierung von rosigem Aussehen und praller Konsistenz war, die Ureterperistaltik einsetzte und sofort Urin produziert wurde; die Versuchstiere überlebten postoperativ die 5-Tage-Frist. Avitale Nieren zeigten nach der Transplantation ein fleckiges Aussehen, das sich innerhalb einer Viertelstunde in eine dunkellivide Verfärbung umwandelte; es war keine meßbare Urinproduktion zu beobachten, und der Gewebeturgor schlaff.

Tab. 1: Sofortfunktion der vitalen Nieren
(Mittelwert und Streubereich)

PAH-clearance (ml/min.)	PAH-extraktion (%)	Inulin-clearance (ml/min.)	Inulin-extraktion (%)	Nieren-durchblutung (ml/min.)
47,7 (10,8-126,2)	11 (0-30)	27,0 (5,2-100)	3 (0-20)	167,5 (130-300)

Insgesamt zeigte sich, daß bei der vorliegenden Konservierungstechnik die Perfusionsgrenze etwa bei 72 h Perfusion liegt: alle länger dauernden Versuche ergaben avitale Nieren. Außerdem fand sich, daß die Nieren relativ unempfindlich auf pH-Änderungen reagierten, da ein pH-Bereich von 7,0 - 7,8 bei 48-stündiger Perfusion toleriert wurde. Hinsichtlich der Sauerstoffspannung fand sich als untere kritische Grenze ein Wert von 80 mm Hg: alle Versuche mit niedrigeren Spannungen ergaben avitale Nieren. Ebenfalls nur avitale Nieren fanden sich bei allen Versuchen, bei denen der Proteingehalt des Perfusats unter 3 g % lag. Ferner ergab auch die Kombination von ischämischer Vorschädigung durch hypotherme Lagerung und 24-stündige Perfusion noch vitale Nieren. Im einzelnen erbrachten die Versuche folgende Ergebnisse:

- Gruppe A: Von den 8 Nieren, die über 48 h perfundiert wurden, waren 7 vital; 2 der "72 h"-Nieren waren ebenfalls vital, die anderen beiden wegen technischer Schwierigkeiten (Thrombosierung der Vene) nicht sicher beurteilbar.
- Gruppe B: Keine der Nieren, die länger als 72 h perfundiert worden waren, erwies sich als vital.
- Gruppe C: Alle 3 Nieren, die hypotherm bei 4°C gelagert waren, erwiesen sich nach 24 bzw. 36 h Perfusion als vital; von den Nieren, die bei 25°C gelagert waren, waren 2 nach 24 bzw. 36 h Perfusion vital, die dritte avital (36 h Perfusion).
- Gruppe D: Die 3 Nieren, bei denen die O₂-Spannung unter 80 mm Hg lag, erwiesen sich nach 48 h Perfusion als avital, ebenso alle Nieren, bei denen der Flow reduziert war; die Versuche mit einer Sauerstoffspannung von 450 mm Hg ergaben vitale Nieren.
- Gruppe E: 2 Versuche mit extremer azidotischer Belastung (pH 6,7 - 7,0) ergaben nach 48 h Perfusion avitale Nieren; bei den anderen Versuchen, bei denen jeweils 2 Nieren im pH-Bereich 7,0 - 7,8 bzw. 7,6 - 8,0 über den gleichen Zeitraum konserviert wurden, waren die Nieren vital.
- Gruppe F: Nach 36 h Perfusion war 1 Niere mit einem Perfusat von 280 mosmol noch vital, die übrigen Versuche ergaben avitale Nieren.

II Perfusionsdaten:

Im weiteren werden die Ergebnisse nur noch nach vitalen und avitalen Nieren unterteilt, da die experimentellen Schädigungen, soweit nicht anders vermerkt, keine genauere Differenzierung ermöglichten.

1) Enzyme:

Je nach Enzym korrelierte der Enzymspiegel im Perfusat sehr eng mit dem Transplantationsergebnis:

a) LDH:

Dieses Enzym ist am besten als Vitalitätskriterium geeignet; wie teilweise aus Abb. 1 ersichtlich, ergab sich nach 48 h Perfusion bei vitalen Nieren ein mittlerer LDH-Spiegel von $422,8 \pm 131,4$ mU/ml, während er bei den avitalen Nieren 1146 ± 581 mU/ml Perfusat betrug. (Signifikanz: $p < 0,005$). Bei linearem Verlauf der Enzyausschüttung ließ sich bei konstanten Versuchsbedingungen eine kritische Grenze des LDH-Spiegels hinsichtlich der Vitalität bei 8,5 mU/ml g Nierengewicht bestimmen; wichtiger als der Absolutwert im Perfusat ist jedoch, wie aus Abb. 1 hervorgeht, der Verlauf der Enzyausschüttung: ein sprunghafter Anstieg (meist > 300 mU/ml die) korreliert stets mit einer irreversiblen Schädigung. Eine Abhängigkeit besteht vom Corticoidspiegel des Perfusats: während nach 48 h Perfusion der LDH-Spiegel bei vitalen Nieren $422,8 \pm 131,4$ mU/ml betrug, belief er sich bei der Vergleichsgruppe mit 4fachem Corticoidspiegel auf $188,5 \pm 33,8$ mU/ml (siehe Abb. 2).

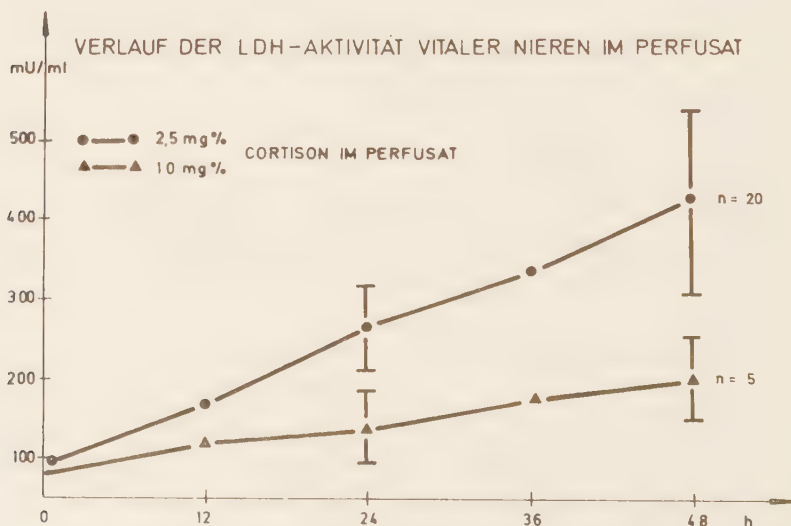
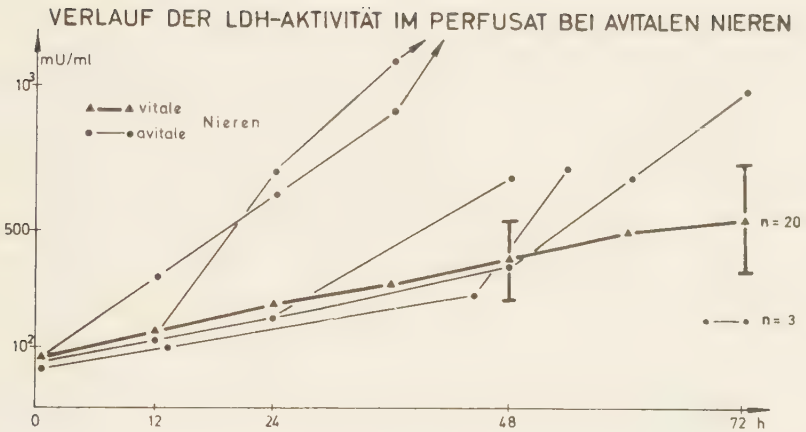


Abb.2



b) a-HBDH:

Abb. 1

Dieses "Enzym" ist bedingt brauchbar als Vitalitätskriterium. Weder in den Absolutwerten noch in den Kurvenverläufen war zwar ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe vitaler Nieren zur Gruppe mit negativem Ergebnis ($36,8 \pm 18,9$ mU/ml bzw. $161,2 \pm 76$ mU/ml gegenüber $47,2 \pm 22$ mU/ml bzw. 180 ± 88 mU/ml); nur die Versuche mit hypovolämischer Hypoxie wiesen signifikant erhöhte a-HBDH-Ausschüttung mit Werten bis zu 1200 mU/ml auf ($p < 0,01$). Abb. 3 zeigt, daß hier der LDH/a-HBDH-Quotient (ein dem Myocardinfarkt adäquates Verhalten) mit einem Anstieg des Quotienten von 1,38 auf 2,61 ($\pm 0,51$) sowie nachfolgendem Abfall bis auf 1,13 ($\pm 0,23$) aufweist. Bei den anderen Gruppen pendelte sich, vom gleichen Anfangsquotient ($1,46 \pm 0,25$) ausgehend, der Quotient nach ca. 24 h Perfusion ein, bei der Gruppe der avitalen Nieren mit $2,67 \pm 0,38$ durch die geringere a-HBDH-Fraktion erwartungsgemäß höher als bei der Vital-Nieren-Gruppe mit $2,45 \pm 0,32$. Signifikanz der Kurvenkontinuität: $p < 0,05$.

Als der initiale verfälschende Perfusatwert ausgeklammert wurde, war der Quotient $(LDH - LDH_{init}) / (a-HBDH - a-HBDH_{init})$ wegen

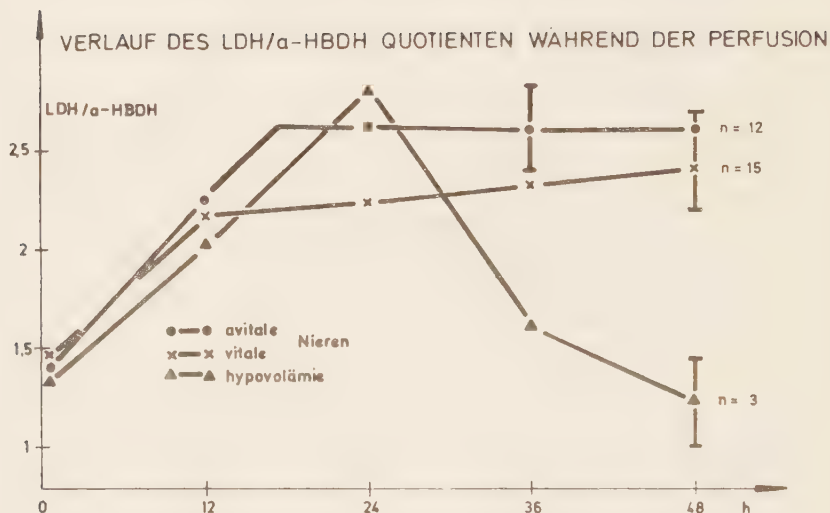


Abb. 3

zu hoher Meßgenauigkeit bei den anfänglichen geringen Enzymanstiegen bis 20 h Perfusion nicht verwertbar; er erbrachte jedoch einen hochsignifikanten 24 h-Wert mit $2,50 \pm 0,31$ bei der Vitalnierengruppe gegenüber $3,53 \pm 0,63$ bei der anderen Gruppe; $p < 0,01$ (siehe Tab. 3). Die hierdurch erfaßte latente Ischämie machte retrospektiv bei einigen Versuchen das Transplantationsergebnis verständlich.

c) alk. und saure Phosphatase, LAP, β -Gluc.:

Wie aus Abb. 4 ersichtlich, sind diese Enzyme als Vitalitätskriterien nicht geeignet. Zum einen ließen sich vitale zu avitalen Nieren von den Absolutwerten her nicht differenzieren, zum anderen waren die Veränderungen zu geringfügig und unspezifisch. Die Absolutwerte sind in Tab. 4 enthalten.

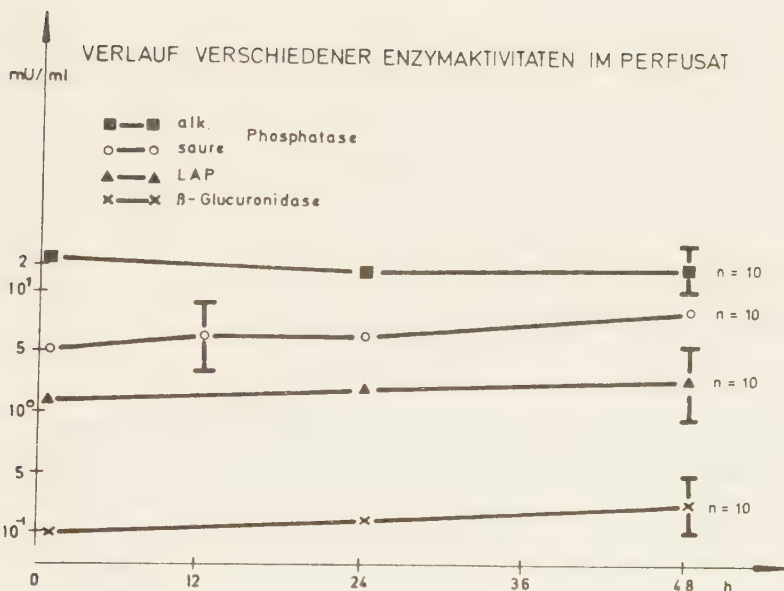
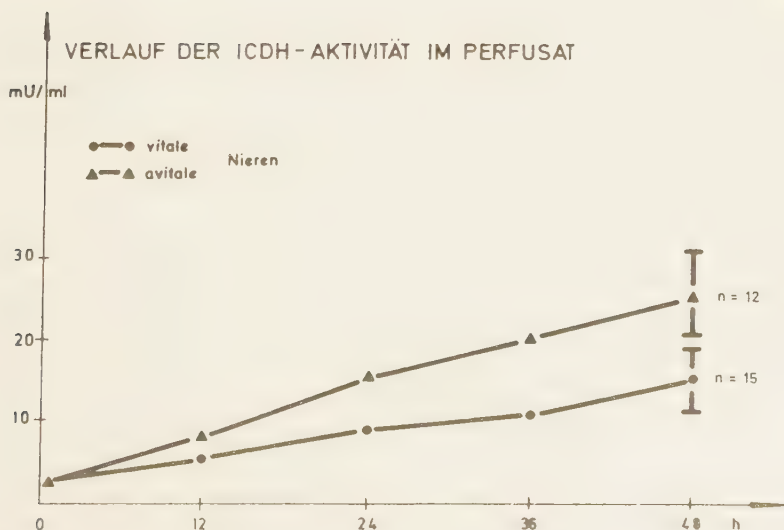


Abb. 4

Abb. 5



d) ICDH:

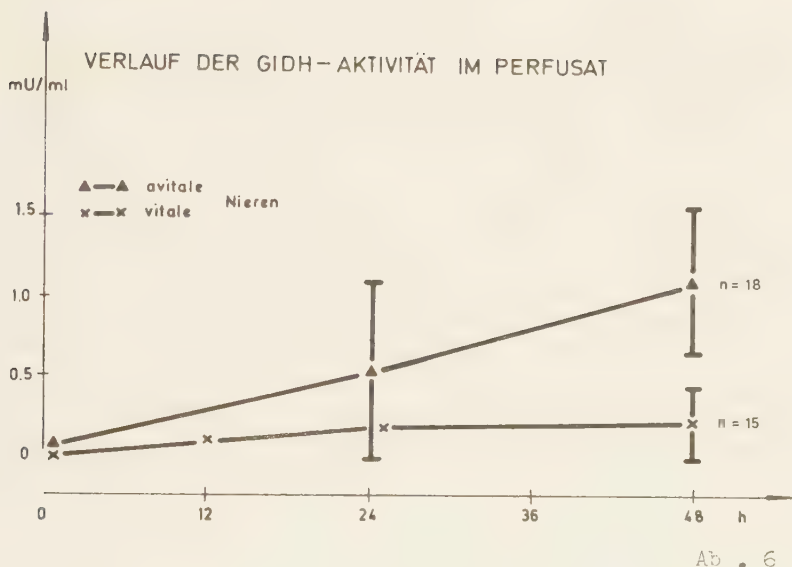
Dieses Enzym ist als Vitalitätskriterium geeignet; Abb. 5 zeigt, daß der Enzymspiegel bei den vitalen Nieren von $2,1 \pm 1,2$ mU/ml ausgehend bis $17,3 \pm 3,3$ mU/ml anstieg, während die Gruppe der avitalen Nieren $27,9 \pm 9,4$ mU/ml aufwies. Signifikanz der Kurvensteigungen: $p < 0,025$. Aus der Linearität des Verlaufs ergibt sich als kritische Grenze hinsichtlich der Vitalität ein Wert von $0,3$ mU/ml g Niere; aber auch hier ist auf die Bedeutung des Verlaufs - siehe LDH - hinzuweisen.

e) G1DH:

Auch die G1DH liefert Aussagen hinsichtlich des Transplantationsergebnisses: ein Anstieg größer $0,5$ mU/ml binnen 24 h korreliert mit einer avitalen Niere ($p < 0,01$). Wie aus Abb. 6 und Tab. 2 ersichtlich, wies die Gruppe der vitalen Nieren Werte von 0 bzw. $0,23 \pm 0,32$ mU/ml auf, die der avitalen Nieren einen Endwert von $1,11 \pm 0,71$ mU/ml. Zur Klärung der hohen Streuung und Verbesserung der Signifikanz wurden Untergruppen hinsichtlich dem Zeitpunkt der Schädigung gebildet: die eine Untergruppe war hierbei durch einen Anstieg von 0 auf $1,0 \pm 0,43$ mU/ml nach 24 h sowie einem 48 h-Wert von $0,7 \pm 0,32$ mU/ml (Inaktivierung) gekennzeichnet; die andere Untergruppe korrelierte bei 24 h Perfusion noch mit den vitalen Nieren ($0,25 \pm 0,13$ mU/ml), hatte aber nach 48 h einen Wert von $1,76 \pm 0,61$ mU/ml; daraus erklärt sich die hohe Streuung.

Tab. 2 Verlauf der G1DH (mU/ml) im Perfusat

Perfusions- dauer (h)	vitale	avitale Nieren		
		1. Gruppe	2. Gruppe	gesamt
0	0	0	0	0
24	$0,2 \pm 0,17$	$1,0 \pm 0,43$	$0,23 \pm 0,15$	$0,5 \pm 0,6$
48	$0,23 \pm 0,32$	$0,7 \pm 0,52$	$1,76 \pm 0,61$	$1,11 \pm 0,71$



f) GOT:

Es wurde eine enge Korrelation zwischen GOT-Gehalt des Perfusats und Transplantationsergebnis gefunden: Wie in Abb. 7 ersichtlich, erfolgte bei den vitalen Nieren ein linearer Anstieg von $4,0 \pm 1,6$ mU/ml auf $18,0 \pm 3,8$ mU/ml nach 48stündiger Perfusion; der Kurvenverlauf bei den avitalen Nieren ist durch einen Ausgangswert von $4,2 \pm 1,7$ mU/ml, einen linearen Anstieg auf $24,2 \pm 1,5$ mU/ml nach 36 h Perfusion sowie einem weiteren Anstieg auf $48,4 \pm 20,9$ mU/ml bei Perfusionsende gekennzeichnet. Der Verlauf der Enzymausschüttung muß hier ebenso beachtet werden wie die Vitalitätsgrenze von ca. 0,3 mU/ml g Nierengewicht.

Der Quotient LDH/GOT ergab bei beiden Gruppen einen gleichen Wert von 24 ± 5 , der im Verlauf der Perfusion mit Schwankungen um 10 % unverändert blieb (siehe Abb. 8).

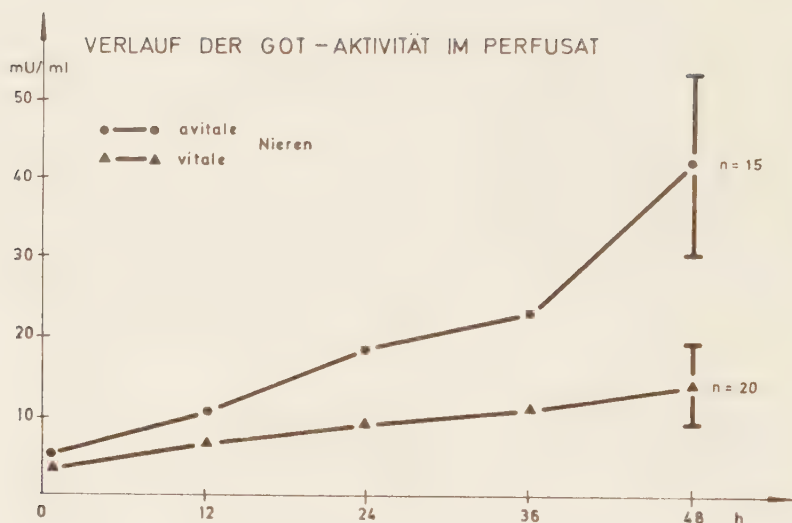
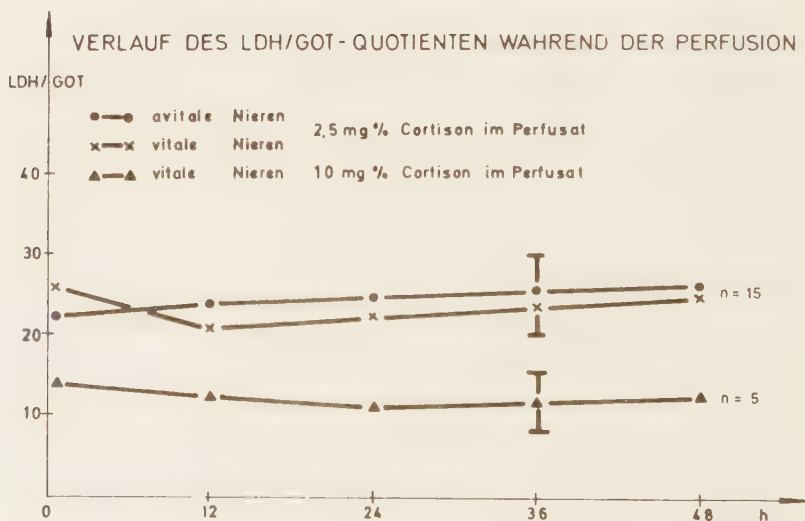


Abb. 7

Abb. 8



Bei dem Perfusat mit erhöhtem Corticoidspiegel (siehe Abb. 2 und 8) fand sich bei gleichen Absolutwerten der GOT durch die Verminderung der LDH nur ein Quotient von $14 \pm 2,5$; das signifikante Ergebnis ($p < 0,025$) deutet auf selektive Permeabilitätsänderung hin; (Abb. 8).

Insgesamt gesehen, erbrachte die Auswertung der entsprechenden Enzyme bei Absolutwerten größer der Vitalitätsgrenze stets eine eindeutige negative Aussage; in den übrigen Bereichen ist vorrangig der Verlauf des Enzymspiegels zu beachten, wobei ein plötzlicher Anstieg der Enzymausschüttung ebenfalls mit avitalen Nieren korreliert: ansonsten ist bei Sicherstellung des linearen Verlaufs bis Perfusionsende durch häufige Messung mit 90 % Sicherheit die Voraussage eines positiven oder negativen Transplantationsergebnisses gegeben. Selbstverständlich macht nur die Konstanz der Versuchsbedingungen (konstantes Perfusatvolumen, gleiche Nierengröße, gleiches Perfusat, Temperatur, Druck, pH gleich) die Ergebnisse übertragbar.

Nachfolgend noch Tab. 3 und 4 mit ergänzenden Meßwerten.

Tab. 3: Verlauf einiger Enzymaktivitäten (mU/ml)

Perfusions- zeit (h)	LDH	LDH	LDH	LDH	GOT	GOT	LDH	LDH
	vitale	avitale	vitale	avitale	vitale	avitale	vitale	avitale
0	20,4±7,2	5,0±2,25	3,5±2,1	0,1±0,1	4,0±1,7	4,2±1,6	2,1±1,2	2,2±1,2
24	19,5±6,3	5,93±1,83	3,42±1,63	0,11±0,1	8,8±2,2	11,6±2,6	2,2±1,2	2,2±1,2
48	18,4±5,2	7,1±1,1	4,11±2,05	0,12±0,1	14,0±3,2	47,0±17	2,2±1,2	2,2±1,2

Tab. 4: Verlauf einiger Enzyme im Vergleich zur LDH

Perfusions- zeit (h)	LDH/ICDH		LDH/a-NDH		Gruppe C	(LDH-LDH _{in})/PEBH-	
	vitale	avitale	vitale	avitale		vitale	avitale
0	1,1±0,1	1,1±0,1	1,1±0,1	1,1±0,1	1,33±0,20	1,1±0,1	1,1±0,1
24	1,1±0,1	1,1±0,1	1,1±0,1	1,1±0,1	1,7±0,1	2,5±0,51	3,55±0,1
48	1,1±0,1	1,1±0,1	1,1±0,1	1,1±0,1	1,7±0,1	1,1±0,1	2,84±0,1

2) Perfusionsdruck:

Der Perfusionsdruck weist eine sehr enge Korrelation zum Transplantationsergebnis auf, wie in Abb. 9 dargestellt. Nachdem der systolische Druck zu Perfusionsbeginn auf 60 mm Hg eingestellt war, fiel während der ersten Stunde der Mitteldruck um 15 mm Hg auf 35 mm Hg ab, und stabilisierte sich nach 3 - 4 h auf dem untersten erreichten Wert (31 mm Hg); bei den vitalen Nieren blieb der Druck während der Perfusion völlig konstant bzw. zeigte bei 72 h Perfusion minimale Anstiege von 1 - 2 mm Hg; die Gruppe der avitalen Nieren hingegen war durch deutliche, meist exponentiell verlaufende Druckanstiege gekennzeichnet. Signifikanz der Kurven: $p < 0,01$. Da auf die Manifestation der Schädigung hin eine kürzere Perfusion erfolgte, gelangte der spätere Verlauf (z.T. $p > 200$ mm Hg) nicht mehr zur Auswertung in der Kurve.

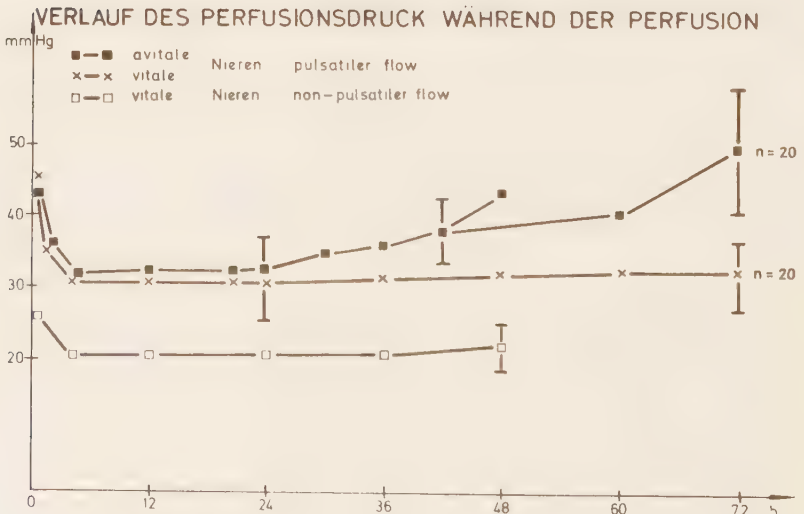


Abb. 9

Wie aus der Streuung sowie anderen Versuchsserien (nonpulsatiles System (51)) hervorgeht, ist nicht der Absolutwert des Perfusionsdrucks, sondern sein Verlauf als Vitalitätskriterium von Bedeutung: ein Anstieg bedeutet eine eindeutig negative Aussage.

Bei 2 Versuchen, bei denen eine Vasokonstriktion der Nieren vorlag, manifestierte sich diese in einem auf 1/4 der Norm erniedrigten Perfusionsflow sowie im Ausbleiben des initialen Druckabfalls; wegen der kurzen Versuchsdauer wurden diese Versuche sonst nicht berücksichtigt.

Gewicht:

Der Verlauf des Gewichts des Organs während der Perfusion ermöglicht eine gewisse Aussage hinsichtlich des Transplantationsergebnisses: während bei vitalen Nieren die mittlere Gewichtszunahme 10 % betrug, machte sie bei den avitalen Nieren 25 % aus. Die mittleren Nierengewichte betrugen $80,1 \pm 14,8$ g zu Perfusionsbeginn, bzw. $94,7 \pm 18,5$ g.

Allerdings war eine hohe Streuung der Einzelwerte zu verzeichnen, die vermutlich auf die Abhängigkeit des Parameters von anderen Faktoren (Druck, System) zurückgeht. Eine Gewichtszunahme größer 15 % ist als negativ zu bewerten.

3) K^+ -Konzentration, osmolare Parameter:

Die K^+ -Konzentration im Perfusat ist nicht als Vitalitätskriterium verwendbar. Abb. 10 zeigt, daß während der Perfusion ein Osmolaritätsanstieg von ca. 10 % erfolgt (Verdunstung). Einen entsprechenden Anstieg weisen auch Na^+ und K^+ auf; die Schwankungen sind auf Vermischung mit der Intravasal-Flüssigkeit zurückzuführen. Wegen der Linearität mit den anderen osmolaren Parametern sowie der fehlenden Differenzierung vital/avital ist die K^+ -Konzentration ohne Aussage hinsichtlich des Transplantationsergebnisses. Die Absolutwerte wurden

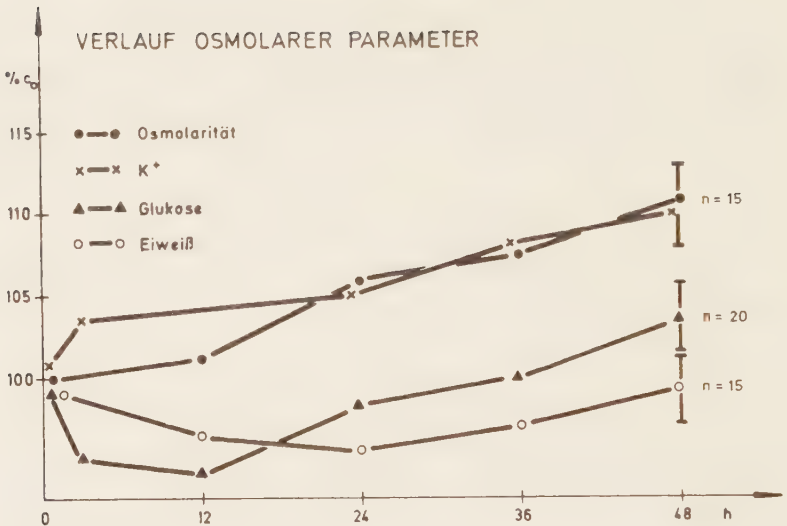


Abb. 10

bereits früher angegeben, die Ergebnisse auch bei anderen Konzentrationen bestätigt (51; 52).

Es ergab sich aber beim Perfusat eine kritische Grenze hinsichtlich des onkotischen Drucks mit 2,9 g % Eiweiß (= onkotischer Druck von 15 mm Hg); sämtliche Versuche mit niedrigerer Konzentration hatten avitale Nieren zur Folge: $p < 0,025$ mit 2,9 g % als Bezugsgrenze. - Bei höheren Absolutwerten fand sich weder vom Absolutwert noch vom Verlauf her eine Korrelation zum Transplantationsergebnis. Der initiale Abfall (siehe Abb. 10) bei Perfusionsbeginn ist auf eine Verteilung im Intravasalbett des Organs zurückzuführen.

4) pH:

Der pH ist kaum als Vitalitätskriterium geeignet: bei konstanter Gaszufuhr zeigt sich nur in einigen Fällen (siehe auch Laktat/Pyruvat-Quotient) ein Anstieg auf azidotische Werte, der mit avitalen Nieren korrelierte; dagegen imponierte die hohe Toleranz der Niere gegen pH-Änderungen im Bereich von 7,0 - 7,8.

Laktat, Pyruvat, L/P-Quotient:

Dieser Parameter ist praktisch nicht als Vitalitätskriterium geeignet: bei normalen Konservierungsdaten zeigen, wie aus Abb. 11 hervorgeht, die Gruppe der vitalen wie der avitalen Nieren gleiches Verhalten. Der Verlauf des Quotienten kommt im wesentlichen durch einen initialen Anstieg bzw. Abfall des Pyruvat zustande, während die Laktatkonzentration konstant blieb (die Meßwerte der einzelnen Metabolite sind in Tab. 5 zusammengestellt).

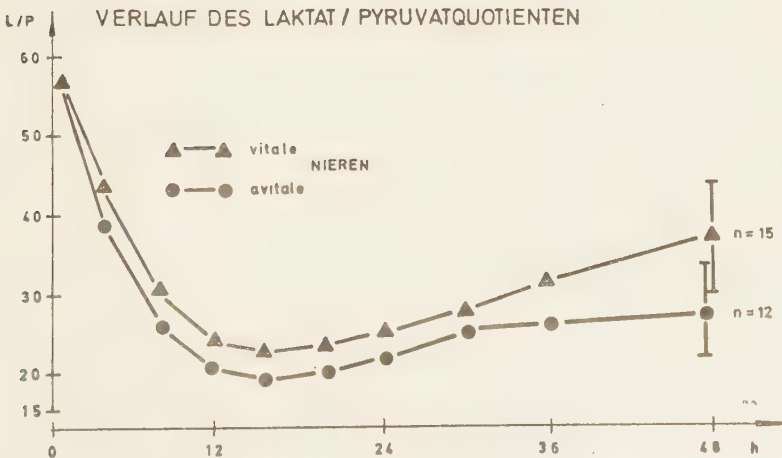


Abb. 11

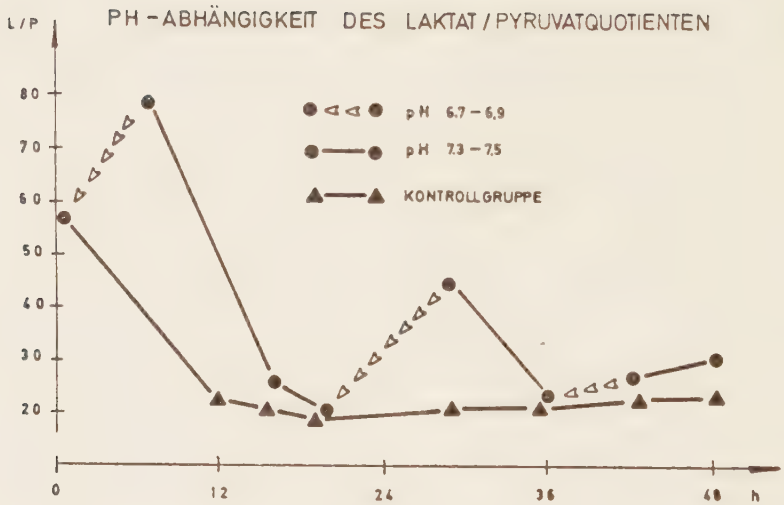


Abb. 12

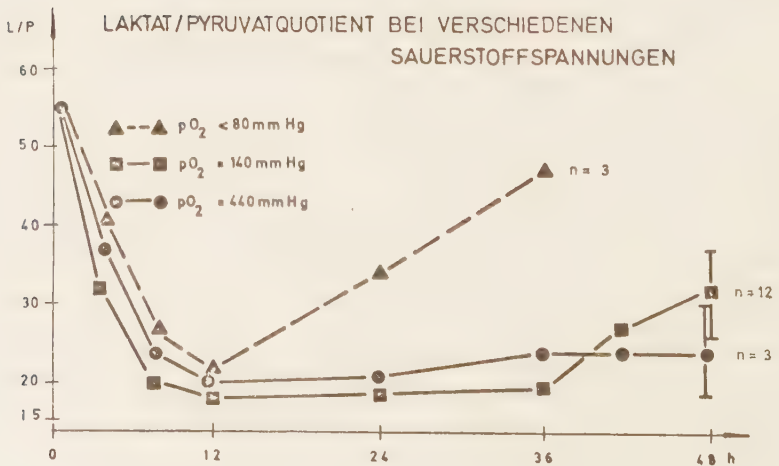


Abb. 13

Die Nieren der Gruppe C, die durch ischämische Lagerung vorge-schädigt waren, zeigten einen gleichen Verlauf wie die Kontrollgruppe; das Fehlen des "excess lactate" kongruiert mit anderen Ergebnissen (3; 59; 64; 82). Hinsichtlich der pH-Abhängigkeit fand sich, wie aus Abb. 12 hervorgeht, daß ein Absinken des pH auf azidotische Werte mit einem Anstieg des Quotienten (Pyruvatkonzentration nimmt ab) beantwortet wurde; nach 36 h Perfusion verhielten sich die Nieren praktisch inert. Ebenfalls keinen Einfluß auf den L/P-Quotienten hatten Sauerstoffspannungen zwischen 140 - 400 mm Hg. Wie aus Abb. 13 ersichtlich, wies er jedoch bei O₂-Spannungen unter 80 mm Hg einen deutlichen, linearen Anstieg auf; da alle diese Nieren avital waren, kann ein massiver Anstieg des L/P-Quotienten, durch O₂-Mangel bedingt, als negatives Vitalitätskriterium gewertet werden; die umgekehrte Folgerung ist jedoch nicht möglich (siehe Abb. 11).

5) Glukose, ATP, Gesamtlipide, Triglyceride, unveresterte Fettsäuren:

Diese Metabolite sind als Vitalitätskriterien nicht geeignet: sie können weder hinsichtlich ihrer Absolutwerte noch hinsichtlich ihres Verlaufs im Hinblick auf das Transplantations-ergebnis differenziert werden. Die Verläufe sind in Abb. 14 und 15 in % der Anfangskonzentration dargestellt, die Absolutwerte wurden bereits anderweitig veröffentlicht (50).

Tab. 5: Glukose- und Laktatkonzentration in Perfusion

	vitale Nieren		avitale Nieren		L/P-Quotient	
	Glukose	Pyruvat	Laktat	Glukose	Laktat	
1	1,1 ± 0,1	0,98 ± 0,42	25,1 ± 4,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	
2	1,1 ± 0,1	1,22 ± 0,58	1,8 ± 0,7	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	
3	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,44	1,6 ± 0,6	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	
4	1,1 ± 0,1	1,33 ± 0,48	29,2 ± 4,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	
5	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	
45	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	

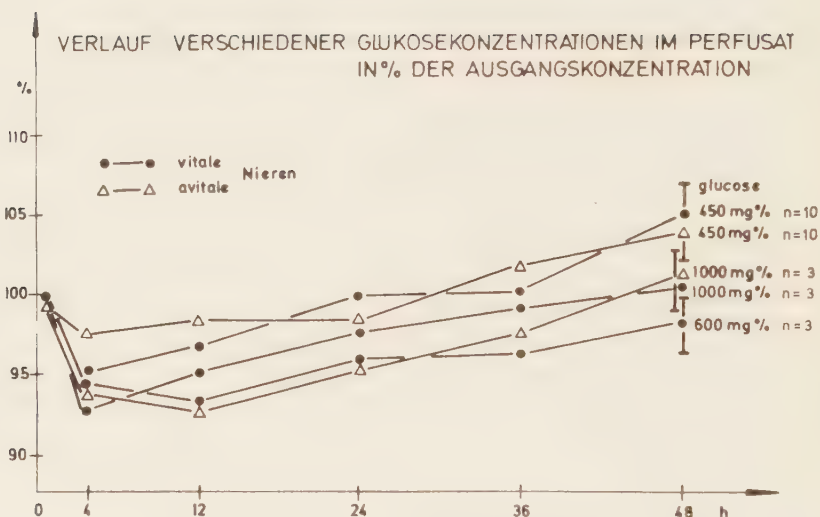
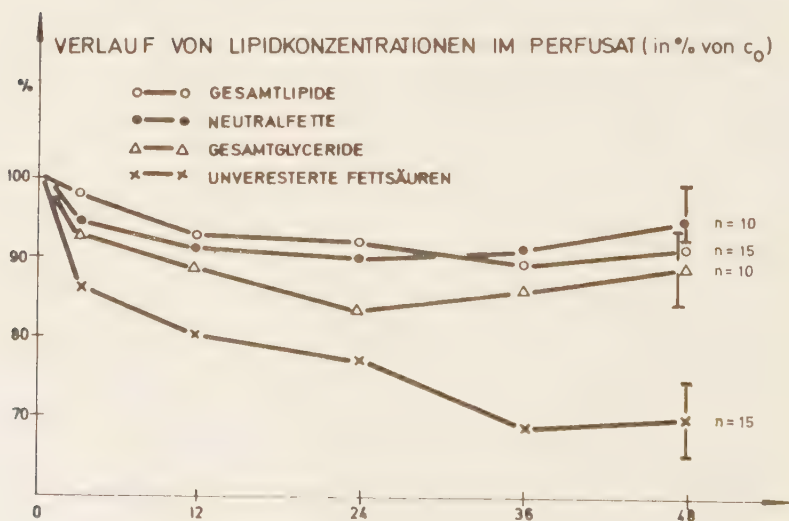


Abb. 14

Abb. 15



D Diskussion:

1) Ergebnisse

Enzymmessungen: Wie aus den Ergebnissen hervorgeht (siehe Abb. 1 - 8), besteht bei einigen Enzymen eine enge Korrelation zwischen Transplantationsergebnis und Enzymmenge im Perfusat. Ein wesentlicher Faktor hierfür ist die Größe des geschädigten Gewebes und sein Enzymgehalt an sich, wobei eine gleichmäßige, hohe Verteilung des Enzyms vorliegen sollte. Die Niere ist aber ein sehr inhomogenes Organ, wie aus der Tabelle der Enzymaktivitäten S. 55 hervorgeht. Zum einen besteht eine unterschiedliche Verteilung entlang des Nephrons, zum anderen variiert der Anteil seiner Strukturen am Gesamtparenchym der Niere: Glomerula 11 %; proximaler Konvolut 42 %; distaler Konvolut 17 %; äußere und innere Medulla 22 %; Papille 8 % (99). Aus dieser doppelten Inhomogenität ergibt sich z.B. für die LDH in einer Hundeniere etwa folgende Verteilung:

Gesamtaktivität 30 000 U.

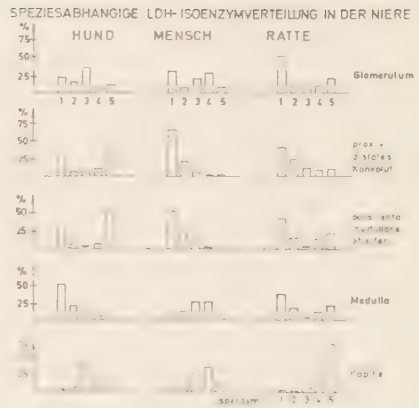
prox. Konv. 46 %	dist. Konv. 28 %	74 %
	Medulla	20 %
	Glomerula	5 %
	Papille	2 %

Hieraus geht hervor, daß im wesentlichen mit dem Enzym LDH nur Schädigungen im corticalen Bereich erfaßt werden; zur genaueren Differenzierung müßten spezifisch lokalisierte Enzyme herangezogen werden, z.B. Renin oder Muramidase für die Papille, Glukose-6-Phosphat-DH und s. Phosp. für die glomeruläre Membran, LAP und alk. Phosp. für die Tubuluszellen.

Eine weitere Möglichkeit bieten die LDH-Isoenzyme: ihre Verteilung im Gewebe soll nämlich derart erfolgen, daß der H-Typ (= Isoenzym 1) in Gewebe mit aerobem Stoffwechsel, der M-Typ bei anaerobem Stoffwechsel dominiert (Kaplan-Theorie; 23; 37; 53; 71; 74). Bei dem unterschiedlichen Stoffwechsel in der Niere (Cortex/Papille) resultiert eine entsprechende

Verteilung auch in der Niere, wie in Abb. 16 dargelegt; - ferner wird darin die große artspezifische Differenz hinsichtlich Verteilung und Absolutwerte der Enzyme demonstriert. - Nach anderen Untersuchungen ist die Verteilung der Isoenzyme nicht so stoffwechselspezifisch, sondern nur dadurch bedingt, daß der M-Typ auch bei hohen Pyruvatkonzentrationen noch die Glykolyse unterhalten kann, der H-Typ nicht mehr (39; 71). Abb. 16

Ferner wird beim Hund die



LDH 1 von der LDH 2 verdrängt (39). Andererseits wurde bei Humannieren nach ischämischer Schädigung ein früher Ausstritt der sonst nur in Spuren vorhandenen LDH 1 beobachtet (114; 117); bei weiteren Untersuchungen fand sich bereits nach 24 h ein vollständiger Umbau des Isoenzymusters von H-Typ zum M-Typ in Abhängigkeit von der Ischämie, dem entsprechende Enzymausstritte folgten (18; 119). Dies korreliert mit dem anfänglichen Abfall in den vorstehenden Versuchen (siehe Abb. 3) durch Umbau bzw. Abnahme der H-Typ-Fraktion. Bei der hypovolämischen Ischämie fand keine Adaptation mehr statt, so daß das ursprüngliche Isoenzymmuster freigesetzt wird. Im übrigen klären die obigen Befunde auch die Ergebnisse und den unterschiedlichen Quotienten (α -HBDH/LDH) zwischen vitalen und avitalen Nieren (latente Ischämie).

Der Verlauf des Enzymgehalts im Perfusat wird neben der Enzymmenge und Verteilung im Gewebe noch von der Schnelligkeit des Enzymübertritts beeinflusst; vor allem bei der Verwendung als Vitalitätskriterium ist wesentlich, daß nur kurze Zeit zwischen Schädigung und Manifestation im Perfusat vergeht. Auch hierbei zeigt, in Übereinstimmung mit anderen

Untersuchungen, die LDH die beste Korrelation zu einer ischämischen Schädigung (siehe Abb. 1 und 2; (12; 77; 89)). - Der Verlauf des Enzymübertritts wird im wesentlichen beeinflusst von physikalischen Eigenschaften der Enzyme (Molekulargewicht, Form, Größe, Ladung), Veränderungen beim Membrandurchtritt (Inaktivierung), intrazellulärer Bindung an Zellorganellen sowie durch deren Lokalisation. Dies trägt dazu bei, daß die saure und alk. Phosphatase, die LAP und die β -Glucuronidase nicht als Vitalitätskriterien zu verwenden sind. Zunächst haben diese Enzyme eine geringere Gewebekonzentration als LDH (2; 44):

LDH : ICDH : GOT : GLDH : alk.P. : LAP : β -Gluc. : saure P.
100 : 20 : 15 : 5 : (5-15) : 2,5 : 0,2 : (0,5-1,5)

Bei der LAP fand sich ferner, daß mit dem gebräuchlichen Test die eigentliche LAP, die frei im Cytoplasma fluktuiert, nur zu 10 - 30 % erfaßt wird, ansonsten die Arylamidase (AA) (100); diese Verdünnung wird durch die Speziesunterschiede zwischen Hunde- und Humanniere verdoppelt.

Ferner haben diese Enzyme hohe Molekulargewichte. Die Angaben hierüber schwanken zwar erheblich (siehe Tab. 6 und (16)), aber die direkte Proportionalität von Diffusionsgeschwindigkeit / Molekulargewicht bedingt eine große zeitliche Differenz zwischen Schädigung und Manifestation im Perfusat.

Tab.6: Molekulargewichte der Enzyme

Enzym	Molekulargewicht (x 1000)	Lokalisation
GOT	78 - 90	Cytoplasma, Mitochondrien
ICDH	61	wie GOT
LDH	120 - 140	Cytoplasma
saure Phosp.	100 - 150	Glomerulum- membran
alk. Phosp.	100 - 180	Zellmembran, Cytoplasma
GLDH	200 - 280	Mitochondrien
β -Gluc.	220 - 350	Lysosomen
LAP	300	Ribosomen, Cytoplasma

Außerdem wird die alk. Phosphatase bei Übertritt in das Perfusat durch Inhibitoren (Phosphat) und Zerfall in Isoenzyme in ihrer Aktivität gemindert (117); weiterhin streuen die Werte stark durch geschlechts- und weichenabhängige qualitative Unterschiede. Überhaupt wurden bei diesem Enzym größere Anstiege nur in Gewebeshomogenaten oder ischämischen in-situ-Versuchen mit Manifestation im Urin beschrieben (1; 64; 94; 115). - Ein weiterer Faktor, die Bindung von Zellorganellen, muß bei der sauren Phosphatase und der L-Glucuronidase berücksichtigt werden (siehe Tab. 5). Insbesondere fand sich, daß die Lysosomen ihren Anteilshalt proportional der ganzen Zelle verlieren, also die Lyse eher im Terminalstadium der Nekrose einsetzt (126; 146). Daneben könnte der im Perfusat vorhandene Corticoidspiegel eine zusätzliche Stabilisierung der Zell- und Organellenmembran bewirken und den Übertritt der L-Glucuronidase verhindern.

Für die Zeitspanne zwischen Übertritt und Enzymübertritt in das Perfusat ist neben dem hohen Molekulargewicht und der Bindung an Zellorganellen vor allem die intrazelluläre Lokalisation und der damit bedingte Diffusionsweg entscheidend. Die Enzyme ALP, L-Glucuronidase und alk. Phosphatase sind zu über 90 % in den Tubuluszellen lokalisiert, aber vorwiegend bzw. ausschließlich auf der tubulären Seite. Dies bezieht sich anderen Untersuchungen Enzymanaloga im Urin (12; 117), schied aber bei den vorliegenden Versuchen an keinen verwertbaren Enzymanstiegen (siehe Abb. 4). Das Enzym ALP hingegen weist ähnliche physikalische Eigenschaften auf (siehe Tab. 5), ist aber in den Mitochondrien und damit auf der vaskulären Seite der Tubuluszellen lokalisiert (12; 120). Der kürzere Diffusionsweg bedingt verwertbare Anstiege im Perfusat und gestattet die Verwendung dieses Enzyms als Vitalitätskriterium (siehe Abb. 6 und Tab. 2); die geringen Feldwerte sind im Hinblick auf die Normalwerte im Humanserum durchaus aussagekräftig. Die Freisetzung dieses Enzyms, bedingt durch einen Zerfall der Mitochondrien, zeigte stets eine irreversible Schädigung und Zellnekrose an (siehe Tab. 2).

Zu beachten ist bei der GLDH und bei dem Enzym ICDH die rasche Inaktivierung im Plasma, bei ersterer durch Zerfall binnen 12 h nach Austritt, bei der ICDH durch Inaktivierung ihrer reaktiven - SH-Gruppen (O_2 -Spannung!). Möglicherweise resultiert daraus die geringe Streubreite der Enzymwerte der ICDH im Perfusat (siehe Abb. 5), da vom Enzymgehalt des Gewebes her, im Vergleich zur GOT, höhere Werte zu erwarten waren. Ferner spielt die unterschiedliche Verteilung in iuxtamedullären und superficialen Nephronen eine Rolle (41; 48; 127). Die ICDH ist wie die GOT teils im Cytoplasma, teils in den Mitochondrien lokalisiert (jeweils 40 - 50 %) (22; siehe Tab. 6). Eine genaue Unterscheidung der beiden Fraktionen ist nur durch Ultrazentrifugieren und Elektrophorese möglich. Abb. 8 zeigt aber, daß der Quotient LDH/GOT während der gesamten Perfusion konstant bleibt, woraus folgt, daß nur die gemeinsame cytoplasmatische Fraktion mit der Enzymmessung erfaßt wird. In diesem Zusammenhang kann auch auf das unterschiedliche Verhalten zwischen GOT und GLDH im Gewebe und im Perfusat hingewiesen werden. Dieser nicht-mitochondriale Teil der GOT und der ICDH liefert dann, wie aus Abb. 5 und 7 hervorgeht, eine Kontrolle und Korrelation zur LDH, und gestattet die Verwendung als Vitalitätskriterium.

Aus den Ergebnissen läßt sich die Schädigung innerhalb des Organs oder der Zelle nicht näher lokalisieren. Hinsichtlich des Verlaufs dürften die Enzymanstiege im Perfusat durch einen partiellen Übertritt von Cytoplasma zustandekommen, der durch eine Permeabilitätsänderung der Membran ermöglicht wird (Metabolit-Mangel, O_2 -Mangel, Hypothermie, Entkoppelung der oxydativen Phosphorylierung). Dies wird wahrscheinlich durch die Anstiege der cytoplasmatischen Enzyme, also LDH, GOT und ICDH, sowie ihr konstantes Verhältnis im Perfusat ("Gewebemuster"), außerdem unterstützt durch die negativen Befunde mit fast allen an Zellorganellen lokalisierten Enzymen. Einen wesentlichen Faktor bildet noch die Porengröße der Zellmembran bzw. das Molekulargewicht der Enzyme, wobei 60 Å (= MG 160 000) die Permeabilitätsgrenze darstellten; der Einfluß

der Corticoide (Stabilisierung der Membran) ist noch nicht sicher beurteilbar. Im weiteren Verlauf zeigt eine Zellnekrose (G1DH-Freisetzung) stets irreversible Schäden an. Für weitere Untersuchungen kommen wohl nur cytoplasmatische, eventuell spezifisch lokalisierte Enzyme, z.B. die eigentliche LAP, in Frage.

Als dritte Komponente beeinflussen die technischen Parameter des Konservierungssystems den Enzymgehalt des Perfusats. Alle Enzymaktivitäten weisen bekanntlich entsprechend ihrer biochemischen Natur pH- und Temperaturoptima auf, die in den vorliegenden Versuchen durch die Konstanz der Versuchsbedingungen ausgeglichen wurden (51). Ferner sollten die Nierengröße und das Perfusatvolumen konstant sein, variierten aber bei den Versuchen um 10 %. Das Volumen beeinflusst erstens die Zirkulationsrate und den Auswaschgradienten, zweitens den Verdünnungsfaktor (Bezugsgröße, Enzymaktivierung). Die Verdünnung ist auch wesentlich hinsichtlich der Entgiftung von Stoffwechselprodukten (siehe Perfusat-Austausch-Versuche (52)) und der autosomalen Hydrolasestätigkeit. Außer dem Volumen beeinflusst noch die Zusammensetzung des Perfusats den Enzymgehalt, z.B. die Osmolarität die Enzymaktivierung, die ionale Zusammensetzung den Diffusionsgradienten und das Extrazellulärvolumen. Von den Zusätzen wirkten sich besonders die Steroide aus (siehe Abb. 2 und 3); sie beeinflussen den Enzymübertritt durch Veränderungen der Membranpermeabilität; der Wirkungsmechanismus ist noch nicht genau bekannt, wahrscheinlich verfestigen sie in den labilen Wandabschnitten, in denen die vitalen transmuralen Prozesse ablaufen (Na^+ -Pumpe etc.) die Poren, die sonst in ihrer Größe variieren (94; 149); diese Verfestigung könnte den unterschiedlichen Enzymaustritt von GOT und LDH (siehe Abb. 8) durch das Verhältnis Porengröße/Molekulargewicht erklären. Außerdem können noch der Flow und die Höhe des Perfusionsdrucks die Enzymwerte im Perfusat verändern. Unterschiedliche Drucke haben unterschiedliche Diffusionsgradienten zur Folge und bei Mitperfusion

des tubulären Teils auch Enzymmusteränderungen. Insgesamt beeinflussen diese konservierungstechnisch bedingten Parameter den Enzymspiegel im Perfusat erheblich, neben dem Gehalt des Gewebes an sich und den anderen, die Diffusion beeinflussenden Faktoren (Molekulargewicht, intrazelluläre Lokalisation). Daher sind nur bei völlig identischen Versuchsanordnungen die Ergebnisse hinsichtlich der Absolutwerte unmittelbar vergleichbar, bei ähnlichen Systemen können zumindest die prinzipiellen Aussagen dieses Parameters übertragen werden.

Abb. 1 - 8 und Tab. 2 - 4 zeigen, daß stets ein gewisser Anstieg des Enzymspiegels im Perfusat zu beobachten ist. Dieser ist zum einen durch einen "physiologischen" turn-over (ca. 10^6 Zellen/die) bedingt, zum anderen durch eine stetige geringgradige Zellwandschädigung durch die Hypothermie (Inaktivierung der Membranpumpen mit Cytoplasmaverlust); die Hypothermie an sich stellt möglicherweise eine Limitierung des hier vorliegenden Konservierungssystems dar. - Bei einem konstanten linearen Anstieg des Enzymspiegels konnte empirisch eine Grenze hinsichtlich der Vitalität gewonnen werden; die entsprechenden Enzymwerte liegen aber relativ hoch, und werden erst nach langer Konservierung erreicht, sodaß nicht auszuschließen ist, daß andere Faktoren, z.B. eine Ansammlung toxischer Stoffwechselprodukte, die eigentliche Ursache darstellen. Auf jeden Fall waren bei Enzymwerten oberhalb dieser Vitalitätsgrenze nur avitale Nieren zu beobachten. Ansonsten kann aber aus dem Absolutwert des Enzymspiegels keine eindeutige Aussage hinsichtlich des Transplantationsergebnisses gewonnen werden. Ferner ist auch die unterschiedliche Höhe der Enzymausschüttung (Steigung der Kurve) nicht aussagekräftig, niedrigere Werte können eventuell im Sinne einer Vitalitätsreserve gedeutet werden. Wesentlich bleibt der Verlauf: vor allem eine plötzliche Erhöhung der Enzymausschüttung in das Perfusat (siehe Abb. 1: "Knick" in den Kurven) weist auf eine schwere Schädigung hin und zeigt stets avitale Nieren an. Die genaue Beachtung des Verlaufs erfordert freilich

bis Perfusionsende sorgfältige Messungen, wobei die letztgewonnenen Werte wegen Meßungenauigkeiten nicht immer eindeutige Aussagen liefern können (Linearität?). Aber auch bei exponentiell ansteigenden Austritten kann die irreversible Schädigung rechtzeitig erkannt werden. Da umgekehrt auch jede Schädigung mit erhöhter Enzymausschüttung einhergeht, ist die Fehlerquote gering (keine falsch-positiven Aussagen). Insgesamt vermag also das Vitalitätskriterium "Enzyme" bei entsprechender Auswahl derselben bedingt Aussagen über die Niere im vitalen Zustand zu machen und irreversible Schädigungen eindeutig aufzuzeigen.

Perfusionsdruck: Ebenfalls nur eine eindeutige Aussage beim Vorliegen einer avitalen Niere liefert ein anderes Vitalitätskriterium, der Perfusionsdruck.

Die Mobilisierung der Niere bringt stets durch Denervierung und humorale Faktoren eine gewisse Vasokonstriktion mit sich, die bei Normothermie eine 30 %ige flow-Ver minderung bedingt (87; 140). Abb. 9 zeigt, daß dann in den ersten Perfusionsstunden eine Vasodilatation stattfindet, die sich bei volumenkonstanter Pumpe in einem entsprechenden Druckabfall manifestiert. Diese Vasodilatation kann von verschiedenen Ursachen herrühren: erstens von der myogenen Inaktivierung der Gefäße (Hypothermie), zweitens von flow-Umverteilungen (O_2 -Spannung, O_2 -Bedarf), drittens von dem gestörten Renin-Mechanismus oder viertens von arterio-venösen shunts, die die medullären Gefäße umgehen; diese weisen in situ den 10fachen Widerstand der corticalen auf (17; 68; 112).

Im Hinblick auf den anfänglichen Vasospasmus muß noch auf die großen Speziesunterschiede hingewiesen werden, wobei Human- und Schweinenieren wesentlich schneller und heftiger auf unphysiologische Reize mit Schock und Vasospasmus reagieren als Hundenieren (4; 14; 92; 146). Hypotonus und ischämische Vorschädigung können ebenfalls eine Vasokonstriktion bedingen (14). Ein Vasospasmus führt aber über einen verminderten

die Hypothermie die Druckanstiege auslösen: zum einen resultiert aus der Insuffizienz der Ionenpumpen in den Zellmembranen (Hypothermie) eine Anschwellung und Ödembildung, zum anderen führt die ungenügende Synthese, verstärkt durch die Steroide, zu einer zu geringen Regeneration (Gefäßrupturen etc.). Alle diese Mechanismen kommen für den Anstieg des Perfusionsdrucks durch eine Erhöhung des kapillären Widerstands in Frage. Andererseits bieten sich, wie aus dem Schema 2 ersichtlich, nur geringe Kompensationsmöglichkeiten. Die eine liegt in einer Umstellung des Stoffwechsels in den anaeroben, führt aber damit auf die Dauer zu einer Azidose und entsprechender Schädigung des Gewebes; die andere ist eine partielle Nekrose des Gewebes, wodurch der Druck vorübergehend konstant bleibt. Das umliegende Parenchym wird aber durch toxische Substanzen, Azidose und Ödembildung weiter geschädigt, und löst deshalb erneute Druckanstiege aus. Daher verlaufen diese Anstiege auch meist exponentiell.

Wie bereits dargelegt (siehe Abb. 9), bedeuten solche Druckanstiege eine irreversible Schädigung der Niere; sämtliche avitalen Nieren werden mit diesem Vitalitätskriterium erfaßt. Bleibt der Perfusionsdruck konstant, so deutet dies auf eine vitale Niere hin; es ist aber noch auf die Enzymmessungen zurückzugreifen, die in diesem Bereich genauere Aussagen ermöglichen (siehe früher). Der Nachteil des Parameters "Perfusionsdruck" liegt darin, daß er nur das bestehende Faktum "avitale Niere" feststellt, aber keine Voraussage desselben enthält. Andererseits ergibt eine Kombination von Enzymmessung und Perfusionsdruck eine exakte Vorhersage: mit diesen beiden Vitalitätskriterien werden nur Nieren, die kurz vor Perfusionsende avital wurden, nicht eindeutig erfaßt. - Geringe Druckanstiege von 1 - 2 mm Hg, die bei vitalen Nieren zu beobachten waren, rühren nicht von einem Anstieg des renalen, sondern des System-Widerstandes her: Veränderungen der Viskosität (Verdunstung!) oder Fibrin- und Lipidniederschläge sind die Ursachen desselben. - Die Voraussetzung

für die Verwendung des Perfusionsdrucks als Vitalitätskriterium bleiben die Volumenkonstanz der Pumpe und ein geschlossenes, unverzweigtes System, in dem weder über eine zweite Niere im System noch zusätzliche Perfusionswege, z.B. offene Nebenäste der art. renalis, ein Druckausgleich erfolgen kann.

Gewicht: In dem Schema 2 werden die Veränderungen des Nierengewichts während der Perfusion angedeutet: die Insuffizienz der Ionenpumpe während der Hypothermie führt zu intrazellulärer und interstitieller H_2O -Einlagerung (Enerson, zit. bei (14)); daneben kommt es bei hohen Perfusionsdrücken zu Gefäßrupturen oder bei ischämischer Schädigung zu Permeabilitätsänderungen; aus diesen Faktoren resultieren die üblichen Gewichtszunahmen während der Perfusion (siehe S. 21). Da aber geschädigtes Gewebe vermehrte Ödembildung aufweist (trübe Schwellung etc.), könnte sich eine Korrelation zwischen Gewichtszunahme und Vitalität der Niere ergeben. Im wesentlichen konnte diese, in Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen, bestätigt werden (59; 90; 93), aber die Messung wird von folgenden Faktoren erheblich beeinflusst: erstens durch eine variierende Menge hilären und kapsulären Fetts (trotz weitgehender Resektion), die starke Ödembildung zeigt; zweitens dadurch, daß mit der Vasodilatation zu Perfusionsbeginn eine reversible intravasale und interstitielle Flüssigkeitsansammlung stattfindet, die bis zu 10 % des Gesamtgewichts betragen kann (89); - der Volumenanteil der beiden Kompartimente beträgt 25 % -; drittens wird die Gewichtszunahme noch vom Perfusionsdruck beeinflusst (siehe (59)): hoher Druck bzw. ein hoher Flow führten bei Vergleichsserien zu höheren Zuwachsraten als niedere; keine Rolle hingegen spielt die Pulsform (52; 59; 93). Durch diese teilweise reversiblen Faktoren weist die Messung der Gewichtszunahme während der Perfusion eine sehr große Streuung auf (siehe S. 21), weshalb für den Einzelfall keine eindeutige Aussage gemacht werden kann. Generell muß eine hohe Gewichtszunahme als ungünstig beurteilt werden, die Grenzwerte

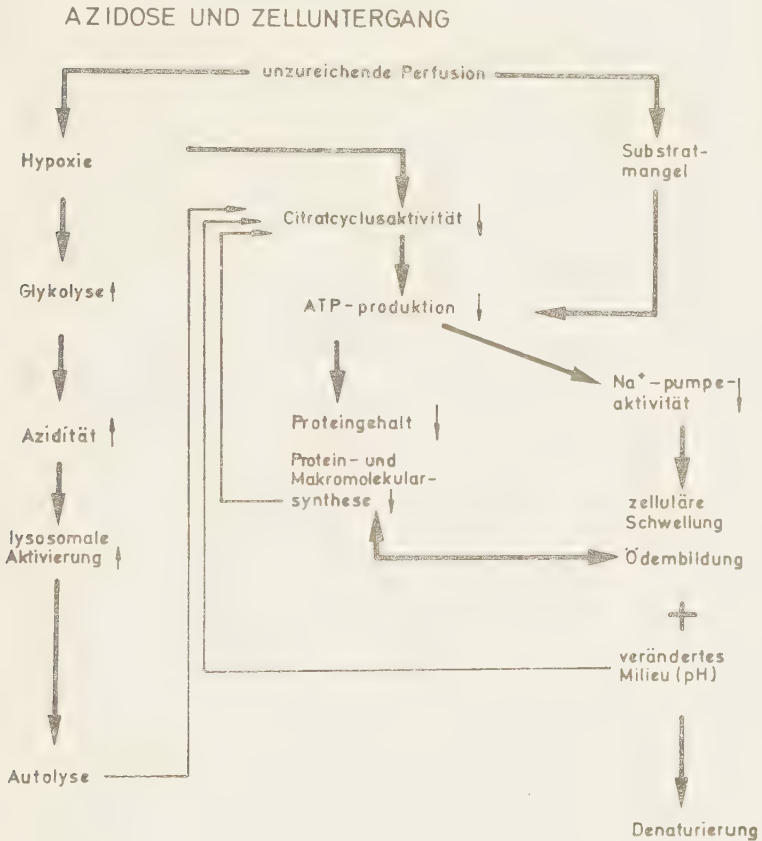
hierfür aber empirisch festgelegt werden, z.B. 15 % bei den vorliegenden Versuchen. Somit ist das Organgewicht insgesamt als Vitalitätskriterium nur bedingt brauchbar.

K⁺, Osmolarität: Interessanterweise wirken sich diese Ödembildungen nicht auf die ionalen Konzentrationen bzw. die Osmolarität aus. Die Werte für letztere liegen im allgemeinen bei 300 - 400 mosmol (14; 28; 29; 65; 89; 153), ungeachtet der ionalen Zusammensetzung. Meist wird ein hyperosmolares Milieu als Prophylaxe gegen die Ödembildung angestrebt; extremere osmolare Veränderungen werden aber von den Nieren nicht mehr toleriert (siehe S. 11; (51)). Abb. 10 zeigt einen linearen Anstieg der Osmolarität während der Perfusion, der auf Verdunstung zurückzuführen ist; die Verdunstungsquote ist vom Konservierungssystem und Standort abhängig, und betrug bei den Versuchen 3 - 4 %/die (5; 65; 67). - Die verwendeten ionalen Konzentrationen reichen von intrazellulärer Zusammensetzung (Na⁺ 10 meq; K⁺ 150 meq) über Gemische (Na⁺ 10 meq; K⁺ 115 meq; Mg⁺⁺ 60 meq) bis zu extrazellulären Zusammensetzungen (Na⁺ 135 - 150 meq; K⁺ 5 - 15 meq) (13; 28; 30; 91; 93): daß trotz dieser Unterschiede mit allen Medien Konservierungen bis zu 48 h gelingen, ist möglicherweise auf die Zusammensetzung des Nierenparenchyms (Na⁺ 80 meq; K⁺ 60 meq) zurückzuführen (91; 150). - Abb. 10 zeigt, daß die Konzentration der beiden Ionen Na⁺ und K⁺ parallel zur Osmolarität verläuft, und vor allem nicht nach vitalen oder avitalen Nieren differenzierbar ist. Hinsichtlich der K⁺-Konzentration war ein Anstieg derselben im Perfusat bei einer Zellnekrose vermutet worden; dies konnte aber nicht sicher festgestellt werden, wobei jedoch die Messung durch verschiedene Faktoren beeinflusst wird: erstens ist die Meßgenauigkeit des Flammenphotometers für die vorliegenden Zwecke kaum ausreichend; zweitens wird ein Teil der Ionen aus der Medulla durch die anfängliche Spülung mit Ringer-Mannitlösung ausgewaschen (70); drittens vermischen sich

diese Flüssigkeiten, wie der 4-h-Wert von K^+ anzeigt (siehe Abb. 10); ferner erfolgt physiologischerweise im Winterschlaf ein völliger Abbau des ionalen intrarenalen Gefälles sowie Veränderungen der intrazellulären Zusammensetzung, deren Ausmaß bei artifizieller Hypothermie offenbleiben muß (25; 107). Außerdem sind die transmuralen Wasserverschiebungen, die von Edelgasen und onkotisch wirkenden Teilchen beeinflusst werden, wesentlich für Ionenverschiebungen (117). Diese Faktoren verdecken möglicherweise den theoretisch erwarteten Verlauf der K^+ -Konzentration; jedenfalls ist diese, wie die übrigen osmolaren Parameter, nicht als Vitalitätskriterium verwendbar. Andererseits stellen sie bei einer längeren Konservierung wesentliche Faktoren dar (Viskosität, Verdunstung).

In Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen fand sich als notwendiger Bestandteil des Perfusats eine gewisse Proteinbeimengung (32; 69; 91). Bei den vorliegenden Versuchen wurde als untere kritische Grenze ein Wert von 2,9 g % Eiweiß (= ca. 15 mm Hg onkotischer Druck) festgelegt. Bei künstlichen Medien wurden die besten Ergebnisse bei einem Proteingehalt über 5 g % erzielt (29; 30; 32; 91), bzw. bei Versuchen mit niedrigeren Konzentrationen die meisten vitalen Nieren dem Perfusat mit dem höchsten Proteingehalt zugeordnet (31; 68). Als Ursache kommt eine Verbesserung der Mikrozirkulation durch den onkotischen Druck und das Funktionieren des Starling-Mechanismus in Betracht; die metabolische Komponente des Proteins besitzt wohl untergeordnete Bedeutung, da homologes und heterologes Plasma bzw. künstliche Proteinbeimengungen (Albumin) die selben Konservierungszeiten ermöglichten (30; 52; 69). Der anfänglich unterschiedliche Verlauf gegenüber anderen osmolaren Faktoren (siehe Abb. 10) kommt durch Denaturierung, größere Meßungenauigkeit und Verteilung im Parenchym zustande. Aber auch dieser Parameter ist im weiteren Verlauf nicht als Vitalitätskriterium verwendbar.

Nachdem im Schema 2 die Schädigung des Nierenparenchyms während der Konservierung von der Zirkulation her dargestellt war, soll sie nun vom Stoffwechsel aus dargelegt werden; siehe Schema 3 (modifiziert nach (26)).



Schema 3

pH: Dieses zeigt, daß dabei die Azidose einen der wesentlichen und zugleich meßbaren Faktoren darstellt; deshalb wurde der pH mit den verschiedensten Meßmethoden auf seine Anwendung

als Vitalitätskriterium hin untersucht. Derartige Messungen sind freilich nur bei konstanter Gaszufuhr sinnvoll. In den vorliegenden Versuchen veränderte sich der anfängliche pH des Perfusats von ca. 7,0 durch O_2 -Zufuhr in den alkalischen Bereich (ca. 7,7); bei zusätzlicher CO_2 -Zufuhr wurde ein physiologischer pH erreicht. Dabei konnte bestätigt werden, daß bei Nieren mit anaerobem Stoffwechsel ein pH-Abfall im Perfusat zu beobachten ist; dies war teilweise durch ischämische Vorschädigung bedingt (76); weiterhin wurden arteriovenöse Differenzen des pH-Werts gezeigt, deren Auftreten und Ausmaß mit der Ischämie korrelierte (5; 76; 111). Außerdem wurde eine Korrelation zwischen dem pH der Nierenoberfläche und dem Perfusat-pH sowie eine lineare Beziehung zwischen ersterem und ischämischer Schädigung festgestellt (5; 33). Insgesamt ergeben alle Befunde, daß ein Abfall des pH mit irreversiblen Schädigungen korreliert und avitale Nieren anzeigt; aber hiermit wird nur ein kleiner Teil der avitalen Nieren erfaßt; ferner sind die technischen Voraussetzungen (konstante Gaszufuhr) schwierig zu realisieren. Außerdem beeinflusst die Dauer, Art und Temperatur der Ischämie den pH-Abfall (33; 68; 94; 125); ferner besteht in dieser Hinsicht eine hohe Regenerationsfähigkeit der Niere nach Rezirkulation (33; 68). Da somit der pH nur schwerste Schädigungen eindeutig aufzeigen kann (durch einen entsprechenden Abfall), ist er als Vitalitätskriterium nur von geringer Bedeutung. - Der relativ breite Raum in den Veröffentlichungen hierüber ist durch entsprechende Versuchsbedingungen bedingt.

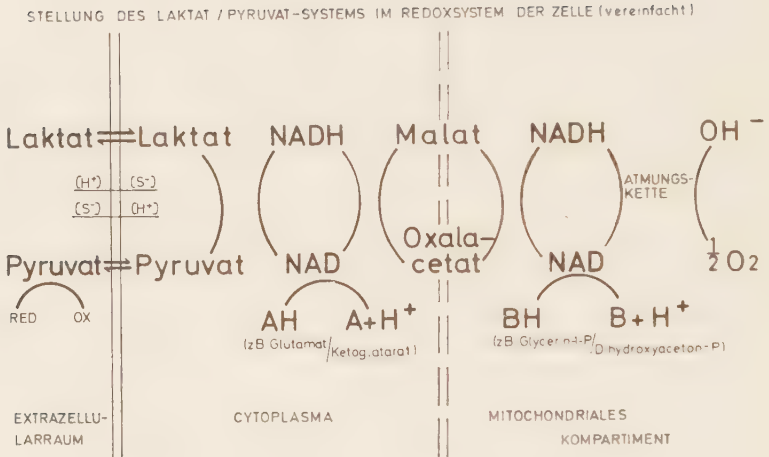
Laktat, Pyruvat: Wie bereits angedeutet, ist die Ursache des pH-Abfalls ein Umschlag des aeroben Stoffwechsels zum anaeroben. Dabei stellt Laktat einerseits das Endprodukt der anaeroben Glycolyse dar, andererseits steht die Gleichung: $Pyruvat + NADH + H^+ \rightleftharpoons Laktat + NAD^+$ am Endpunkt der Atmungskette. Daraus folgte Luckabee, daß sich aus dem Quotienten eine Aussage über die jeweiligen Stoffwech-

selffraktionen (aerob/anaerob) machen läßt (66). Das Massenwirkungsgesetz (MWG) hierzu:

$$\text{Laktat} = \text{Pyruvat} \cdot \text{H}^+ \cdot K \cdot \frac{\text{NADH}}{\text{NAD}}$$

zeigt, daß die Laktatänderungen zum einen entsprechend den Pyruvatänderungen variieren können. Die Konzentrationsänderungen, die durch Verschiebungen des Redoxpotentials verursacht werden (siehe MWG), werden unter dem Begriff "excess lactate" erfaßt (66); die Höhe dieses Quotienten verhält sich nach Korrektur proportional dem Stoffwechsel (66).

Die erste Fehlerquelle stellt dabei der pH dar, wie aus obiger Gleichung hervorgeht. Die Abhängigkeit des Quotienten wurde auch in Abb. 12 demonstriert und erfolgte in der erwarteten Weise in einem Abfall des Pyruvat mit entsprechendem Anstieg von L/P. Unterschiedliche Veränderungen im Verlauf der Perfusion sind wahrscheinlich auf eine unterschiedliche Mitreaktion des Nierenparenchyms zurückzuführen. Hinsichtlich des gesamten Verlaufs des Laktat-Pyruvat-Quotienten darf hier zusammengefaßt festgestellt werden (siehe (50)): der anfängliche Abfall des Quotienten ist wahrscheinlich artifiziell bedingt; die Abpufferung des ACD-Stabilisators, das unphysiologische Verhältnis der beiden Metabolite sowie Perfusatunterschiede sprechen dafür, daß bei der O₂-Zufuhr durch andere Puffersysteme (Bicarbonat) eine Verdrängung des Laktat mit entsprechender Regulierung des L/P-Quotienten erfolgt. Die Beteiligung aus dem Nierenparenchym an dem primären Quotientenabfall durch ionale Verteilung oder Diffusion dürfte gering sein, zumal ein Carriersystem in der Zellmembran durch aktive Transporte die Quotienten verringert (46; 57; 62; 63; 88; 135). Der Anstieg des Quotienten nach ca. 24 h Perfusion ist ausschließlich durch die Niere bedingt und deutet auf eine Verschlechterung der Konservierungsbedingungen hin (siehe Abb. 11). - Wenn jedoch hierbei über das "excess lactate" auf Änderungen des Redoxpotentials geschlossen werden soll, muß berücksichtigt werden, daß die Ursache, NAD⁺ und NADH, im Cytoplasma und in den Mitochondrien lokalisiert ist; den näheren Zusammenhang erläutert das folgende, noch vereinfachte Schema:



Schema 4

Insgesamt sind also 3 Carriersysteme beteiligt - intramitochondrial noch Glycerin-1-P / Dihydroxyaceton-P -, die entsprechend ihrer Konzentration und ihrem Gleichgewicht unterschiedlich am Zustandekommen des gesamten Potentials beteiligt sind; deshalb muß der L/P-Quotient keineswegs dem NADH/NAD-System entsprechen. Außerdem wird im offenen System der Zelle die Konzentration eines Stoffes von seiner Umsatzrate bzw. Zu- und Abfuhrgeschwindigkeit bestimmt, weshalb sich häufig kein Gleichgewicht nach dem MWG einstellt. Tatsächlich variieren der mitochondriale und cytoplasmatische NADH/NAD-Quotient um den Faktor 10 - 1000 (56; 62; 110). Ferner könnte auch an der Zellmembran durch die Stauung eines Metaboliten der Quotient verzerrt werden; im allgemeinen sorgt aber die hohe Umsatzrate der LDH für eine rasche Adaptation (63; 110). Deshalb korreliert insgesamt der Laktat/Pyruvat-Quotient nur mit dem cytoplasmatischen NADH/NAD-System und nicht mit dem mitochondrialen, das den eigent-

lichen Stoffwechselindikator darstellt. Daher weisen vitale und avitale Nieren in den meisten Fällen den gleichen L/P-Quotienten-Verlauf auf (siehe Abb. 11) und lassen ihn als Vitalitätskriterium nicht verwendbar werden. -

In den vorliegenden Versuchen trat "excess lactate" im Perfusat nur bei einem hypoxisch oder anoxisch bedingten O_2 -Defizit auf, was mit anderen Befunden übereinstimmt (siehe Abb. 13 (7; 24; 56; 110)). Dabei wurde eine Sauerstoffspannung von 80 mm Hg als grenzwertig erachtet, belegt durch physiologische Daten, Befunde anderer Konservierungssysteme und die Beobachtung ischämischer Mikrobezirke bei ausreichender mittlerer O_2 -Spannung (32; 85; 140). Abb. 13 zeigt, daß bei niedrigeren Spannungen stets ein progredienter und reproduzierbarer Anstieg des L/P-Quotienten zu registrieren war; ferner waren sämtliche Nieren dieser Gruppe avital. Daher korreliert in diesen Fällen ein Anstieg des L/P-Quotienten mit dem Transplantationsergebnis, und macht ihn bedingt als Vitalitätskriterium verwendbar. Eine entsprechende Korrelation zwischen Laktaterhöhung bzw. "excess lactate" und Vitalität der Nieren wurde auch bei anderen Untersuchungen gefunden (7; 50; 56; 59; 109; 110); sie entspricht ferner der Registrierung des pH in den verschiedenen Formen (5; 33; 76) wie der Beobachtung, daß bei ischämischer Lagerung ein Abfall des O_2 -Verbrauchs zur gleichen Zeit zu verzeichnen ist wie eine Verschlechterung der postoperativen Vitalität (1; 33; 82; 109). Da der Laktat/Pyruvat-Quotient die eigentliche Ursache der obigen Beobachtungen darstellt, ist seine Messung den anderen vorzuziehen. Ein progredienter Anstieg des Quotienten bedeutet eine irreversible Schädigung der Niere, ansonsten ist er nicht als Vitalitätskriterium verwendbar.

Stoffwechsel: Wie in Schema 3 dargestellt, kann die Schädigung der Niere zum einen durch eine progrediente Anhäufung von Laktat, einer daraus resultierenden pH-Änderung mit Enzym-inaktivierung und Proteindenaturierung eintreten (s. früher),

oder aber von einer Reduzierung der vorhandenen Energievorräte herrühren (26; 63; 126). Dabei scheint es nicht auf die Absolutwerte der metabolischen Substrate anzukommen, sondern auf das Verhältnis zum Bedarf der Zelle, worauf folgende Befunde hinweisen: nach Ischämie sind die Zellen bereits irreversibel geschädigt, während die Mitochondrien noch bis zu 90 % ihrer ursprünglichen Leistung erbringen (z.B. gemessen durch oxydative Phosphorylierung) (119; 142); allerdings ist die Regenerationsfähigkeit der Mitochondrien ATP-abhängig. Somit liegt die entscheidende Schädigung der Zelle nicht in den Mitochondrien selbst. Vielmehr scheint die Restitution des Nukleotidgehalts, der während der Ischämie stark abnimmt, zu langsam zu erfolgen, da sehr viel ATP benötigt wird (44; 62; 119; 123; 142); dies erklärt dessen Korrelation zur Vitalität. Insgesamt bildet daher wohl das Mißverhältnis zwischen Syntheseleistung und Bedarf (zur Regeneration) den entscheidenden Faktor des Zelluntergangs. Andererseits erfassen die Vitalitätskriterien des Stoffwechsels im allgemeinen nur mitochondriale Leistungen, und können somit gar keine eindeutige Aussage hinsichtlich der Vitalität liefern. -

Der basale Parameter des Stoffwechsels ist der O_2 -Verbrauch; die Beziehungen zur anaeroben Glycolyse und die Korrelation zur Vitalität wurden bereits S. 45 diskutiert, genaue Befunde anderweitig erhoben (87); prinzipiell wird hinsichtlich des O_2 -Verbrauchs im Stoffwechsel stets eine vollständige oxydative Phosphorylierung vorausgesetzt; aber bei der Niere bilden die hohen Konzentrationen von Zwischenmetaboliten, vor allem im Fettstoffwechsel, erhebliche Fehlerquellen (56; 65; 106; 143); außerdem differenziert dieser Parameter nicht die unterschiedlichen Stoffwechseltypen von Nierencortex und -medulla: insbesondere der medulläre Anteil beträgt in vivo nur 7 % bis max. 14 % (bei Diurese) des Energiebedarfs, in vitro aber durch das Fehlen resorptiver Leistungen ca. 30 % (entsprechend seinem Gewebeanteil) (21; 79; 125). Aus diesen Gründen kann der O_2 -Verbrauch der Niere kaum als Vitalitätskriterium

verwendet werden - Ausnahmen siehe S. 45 -, wie auch andere Befunde bestätigen (94; 109).

Desgleichen sind auch die verschiedenen Stoffwechselfraktionen nicht als Vitalitätskriterien verwendbar; ihr Verlauf während der Perfusion ist in Abb. 14 und 15 aufgezeigt, eine Differenzierung in vitale und avitale Nieren war nicht möglich. Teilweise waren postoperativ Unterschiede in der Umsatzrate oder Bevorzugung einzelner Stoffwechselfraktionen beobachtet worden (86; 133); in vitro wurden diese Befunde möglicherweise durch die Meßungenauigkeiten (Lipide) verdeckt. Ferner bleibt, wie dargelegt, das Verhältnis von mitochondrialer Leistung und Energiebedarf der Zelle für die Schädigung entscheidend, wobei mit diesen Parametern nur erstere erfaßt werden kann. Außerdem muß berücksichtigt werden, daß die Faktoren Azidose und/oder Substratmangel in der Niere unterschiedlich dominieren: bekanntlich findet bei Ischämie ein ATP-Abfall auf 10 - 20 % statt und eine entsprechende Laktatakkumulation; der Basalspiegel des ATP resultiert aus der anaeroben Glycolyse (Beweis: Enzymblockade) (84; 88; 119; 148). Mit diesem Spiegel kann das medulläre Kompartiment die Zellstruktur aufrechterhalten, weshalb wohl die Azidose die wesentliche Schädigung darstellt, während hingegen beim Nierencortex dieses Energieniveau des anaeroben Stoffwechsels ungenügend ist, und somit der Substratmangel der primäre Faktor ist (21; 63; 79; 88; 106). Diese Vorgänge sind am gesamten Organ noch nicht mit Vitalitätskriterien faßbar.

Andererseits zeigten die Stoffwechseluntersuchungen sowohl einen gewissen Verbrauch der Metabolite an (siehe Abb. 14 und 15; Absolutwerte in (50)) wie auch ausreichende Substratkonzentrationen bis Perfusionsende. Die Verschlechterung der Konservierungsbedingungen nach 24 h Perfusion, die der Anstieg des Laktat/Pyruvat-Quotienten anzeigte (siehe Abb. 11), konnte also nicht metabolisch bedingt sein; es wurde daher eine Ansammlung toxischer Substanzen im Perfusat angenommen,

die aus dem Konservierungsgerät oder im Stoffwechsel (NH_3) herrühren könnten. Aus diesem Grund wurde nach 24 h ein vollständiger Perfusataustausch vorgenommen. Bei den bisher erfolgten Versuchen ($n = 10$) fand sich, daß durch diesen Austausch die Konservierungszeit um 24 h auf insgesamt 4 Tage verlängert werden konnte; diese Verbesserung war als Norm zu betrachten. - Auch wenn also keiner der Stoffwechselparameter als Vitalitätskriterium zu verwenden ist, wurde damit doch die Vitalität des Organs im weiteren Sinne erfaßt (Anstieg des L/P-Quotienten). Der daraus resultierende Perfusat-Austausch verbessert die Konservierung und verlängert sie entsprechend um 24 h; weitere Untersuchungen hierzu müssen noch folgen.

2 technische- und Meßfehler:

Versuchsbedingungen: Die Temperaturschwankungen während eines Versuchs betrugen $\pm 1^\circ \text{C}$, insgesamt umfaßten sie einen Bereich von 4°C . Das Perfusat war bis zum Einlegen der Niere auf mindestens 10°C gekühlt, sein initialer pH auf 7,3 - 7,4 einreguliert. Der pH wurde durch eine unterschiedliche Eichung der pH-Meter sowie den nicht vollständigen Temperaturengleich ($\text{pH } 38^\circ \text{C} = \text{pH}_t - 0,0118 \cdot (38 - t)$) mit einem Fehler von 0,1 - 0,2 bestimmt. Die O_2 - und CO_2 -Spannungen wiesen max. 5 mm Hg Fehler auf durch ungenügenden Temperaturengleich. - Das Perfusatvolumen schwankte filtrationsbedingt um 5 - 10 Vol %, die ionale Zusammensetzung ebenso; die Zusätze waren konstant. - Der Perfusions-Mitteldruck wurde mit einer Genauigkeit von 1 - 2 mm Hg registriert; der Fehler kommt durch die Skala des Registriergerätes, unterschiedliche Länge des by-pass und variiierende Windkessel zustande.

Meßfehler: Im Labor wurden vorgegebene Werte mit einer Genauigkeit von $100 \pm 3 \%$ analysiert, Doppelkontrollen bei sonstigen Analysen ergaben eine Genauigkeit von $100 \pm 6 \%$. Die

verwendeten UV-Tests hatten eine durchschnittliche Fehlerbreite von 5 %, sowie im interessierenden Meßbereich ihr Genauigkeitsmaximum (16); bei Grenzwerten (z.B. LDH > 1000 mU/ml) waren Schwankungen um 15 % zu verzeichnen. - Wegen der kurzen Aufbewahrungszeit sowie dem günstigen Medium fiel die Labilität der Enzyme bzw. die Sterilität (Glucose) nicht ins Gewicht, da der Aktivitätsverlust max. 3 % / 24 h betrug (genaue Aufstellung S. 137 in (16) 2.Aufl.). Vereinzelte höhere Fehlerquellen waren bei K^+ , alk. Phosp. und β -Gluc. zu registrieren mit durchschnittlich 15 % Genauigkeit (Meßmethode, Testspezifität). - Durch die geringen Enzymanstiege und die Unspezifität bedingt, wies die a-HBDH zu Perfusionsbeginn eine 25 %ige Varianz auf, die 100 % Fehlerquote beim Quotienten bedingt; bei höheren Werten lag sie dann noch bei 5 - 10 %. Desgleichen lag beim Laktat/Pyruvat-Quotienten die theoretische Varianz von 22 % stets unter einer Fehlerquote von 10 %.

Aus der Anzahl der Versuche, in denen ein Parameter gemessen wurde ($n = 15 - 45$), geht hervor, daß der statistische Fehler um 20 % liegt.

Abnorme Werte wurden nochmals überprüft; ansonsten erfolgte eine Korrektur nur bei grenzwertigen Versuchsbedingungen, z.B. sehr große Niere, wenig Perfusat, und betrug max. 10 %; die Verdunstung wurde nicht berücksichtigt.

E Zusammenfassung:

In einem geschlossenen Konservierungssystem mit volumenkonstanter pulsatiler Pumpe, Sauerstoffspannungen von 150 - 200 mm Hg und Temperaturen von 8° C wurden Hundenieren unter Verwendung von kryopräzipitiertem homologem Plasma als Perfusat 48 - 72 h konserviert und anschließend retransplantiert. Die postoperative Funktion wurde bei den 42 Versuchen mit Clearance-Messungen und Isotopennephrogrammen überprüft.

Transplantationsergebnisse: Keine der Nieren, die länger als 72 h konserviert waren, erwies sich als vital; auch bei Sauerstoffspannungen unter 80 mm Hg wurden nur avitale Nieren gefunden; ein pH-Bereich von 7,0 - 7,8 wurde bei 48 h Perfusion toleriert; das Perfusat muß mindestens 3 g % Protein enthalten, und sollte einen höheren Corticoidspiegel (10 mg %) aufweisen. Über die Verlängerung der Konservierung durch Perfusataustausch siehe S. 48.

Daneben wurden während der Konservierung 5 verschiedene Methoden durch insgesamt 25 Parameter auf ihre Verwendbarkeit als Vitalitätskriterien untersucht; diese müssen sowohl den Zustand des Organs in-vitro wie seine postoperative Funktion erfassen. Hierzu wurden in 4 - 6stündigem Abstand Perfusatproben abgenommen und analysiert, mit folgenden Ergebnissen:

1) Enzymmessungen:

allgemein: Bei einigen Enzymen ist der Enzymspiegel im Perfusat sehr gut als Vitalitätskriterium verwendbar durch die mögliche Differenzierung in vitale und avitale Nieren.

Während der Konservierung ist stets eine gewisse Enzymausschüttung in das Perfusat zu beobachten. Blieb diese Rate konstant, so fand sich empirisch eine kritische Grenze hinsichtlich der Vitalität; lagen die Enzymwerte höher, so korrelierte dies stets mit einer avitalen Niere; möglicherweise

sind aber andere Faktoren (toxische Substanzen) die eigentliche Ursache. Bei niedrigerem Enzymgehalt des Perfusats sind weder die Absolutwerte noch die konstante Ausschüttungsrate von großer Bedeutung; wesentlich ist der Verlauf: zeigt sich ein zusätzlicher Anstieg des Enzymübertritts, der meist plötzlich eintritt, so bedeutet dies eine irreversible Schädigung der Niere (= Knick in der Kurve). Somit erfaßt die Kombination von Enzymverlauf und -wert alle avitalen Nieren; der Parameter ist ohne falsch-positive Aussage. Bei Vergleichen muß die Abhängigkeit des Parameters (Perfusatvolumen, Perfusat + Zusätze, konstante Versuchsbedingungen) beachtet werden.

speziell: Das am besten geeignete Enzym war auf Grund des raschen und allgemeinen Ansprechens die LDH; adäquate Vitalitätskriterien sind die Enzyme GOT und ICDH. Bedingt brauchbar sind die Enzyme GLDH, bei der ein Anstieg größer 0,5 mU/ml • die als ungünstig zu werten ist, sowie die LDH-Isoenzyme ("a-HBDH"); deren Absolutwerte sind ohne Aussage hinsichtlich der Vitalität, aber der Quotient LDH/ a-HBDH deckt latente Ischämien auf; spezifischere Meßmethoden würden eine frühzeitigere Anwendung ermöglichen (z.Zt. nach 24 h Perfusion). Als Vitalitätskriterium nicht verwertbar waren die Enzyme LAP, β -Glucuronidase und die alk. und saure Phosphatase.

2) Perfusionsdruck, Gewicht:

Ein sehr gutes Vitalitätskriterium ist auch der Perfusionsdruck, wenn eine volumenkonstante Pumpe und ein unverzweigtes System vorhanden sind. Ein Ausbleiben des initialen Druckabfalls nach Perfusionsbeginn deutet auf einen schweren Vasospasmus hin, der eine irreversible Schädigung der Nieren zur Folge hat. Bleibt nach dem initialen Abfall der Perfusionsdruck während der Konservierung konstant, so erhöht dies die Wahrscheinlichkeit einer vitalen Niere; größere, meist exponentiell verlaufende Druckanstiege hingegen bedeuten

eine avitale Niere. Somit ist auch bei diesem Parameter der Verlauf, nicht die Absolutwerte entscheidend; der Befund hinsichtlich eines negativen Transplantationsergebnisses eindeutig.

Die Gewichtszunahme des Organs während der Konservierung ist als Vitalitätskriterium bedingt brauchbar: bei System- und Druckabhängigkeit sind generell hohe Gewichtszunahmen als ungünstig zu werten, geringe Zunahmen wegen der großen Streuung ohne Aussage.

3) osmolare Parameter:

Weder die K^+ -Konzentration, noch die anderen osmolaren Faktoren (Osmolarität, Na^+ , Protein) können als Vitalitätskriterium verwendet werden, da vitale/avitale Nieren durch diese Parameter nicht differenzierbar sind.

4) pH, Laktat/Pyruvat-Quotient:

Bei konstanter Gaszufuhr ist der pH manchmal als Vitalitätskriterium verwendbar: ein Anstieg des pH auf azidotische Werte bedeutet eine irreversible Schädigung der Niere.

Kein Vitalitätskriterium stellt bei normalen Konservierungsbedingungen der Laktat/Pyruvat-Quotient dar, da eine Differenzierung hinsichtlich des Transplantationsergebnisses vom Quotientenverlauf her nicht möglich ist; bei einer durch zu niedrige O_2 -Spannung bedingten Hypoxie jedoch zeigt sich ein progredienter starker Anstieg des Quotienten, mit avitalen Nieren korrelierend (siehe pH). Dies sind aber Einzelfälle.

5) Stoffwechselmetabolite

Ebenfalls nicht als Vitalitätskriterium waren die verschiedenen Stoffwechselfractionen zu verwenden (Glukose, ATP, Lipide, freie und veresterte Fettsäuren, Neutralfette).

Die beste Kontrolle der Vitalität der Niere während der Konservierung stellt somit eine Kombination aus Perfusionsdruck und Enzymen (LDH und/oder GOT, ICDH) dar; alle übrigen obigen Parameter sind hierzu nur ergänzend. Mit dieser Kombination kann eine differenzierte und richtige Vorhersage hinsichtlich des Transplantationsergebnisses getroffen werden - nur Schädigungen kurz vor Perfusionsende werden nicht erfaßt -, was für die Praxis als hinreichend gelten darf. Sorgfältige Kontrollen auf Grund der Bedeutung des Verlaufs bei den Parametern sind aber unerlässlich.

Ferner war eine allgemeine Verschlechterung der Vitalität der Nieren nach 24 h Perfusion durch den Anstieg des Laktat/Pyruvat-Quotienten erkennbar geworden, der auf toxische Substanzen im Perfusat beruht. Deshalb wurde nach 24 h Perfusion ein vollständiger Perfusataustausch vorgenommen. Bei den bisherigen Versuchen hierzu fand sich eine entsprechende Verlängerung der Konservierungszeit auf 96 h. Diese Verbesserung der Konservierung um 24 h durch den Perfusataustausch bedarf aber noch weiterer Abklärung.

Anhang:

Möglichkeiten der enzymatischen Diagnostik einer Abstoßung nach Human-Nieren-Transplantation:

Allgemein manifestiert sich eine akute tubuläre Nekrose u.a. durch einen Anstieg der LDH im Urin, wobei das ischämische Isoenzymmuster überwiegt (72); der hohe Anteil von LDH 5 konnte experimentell durch Ischämie erzeugt werden (139). Speziell hinsichtlich der Abstoßung wurde gleichfalls eine Erhöhung der LDH-Ausschüttung mit Überwiegen des K-Typ gefunden (114); diese Beobachtung konnte bestätigt und mit genauen Messungen von LDH 4 und LDH 5 korreliert werden (116); die Differentialdiagnose zwischen einer Abstoßung und einer Schockniere gelang jedoch nicht befriedigend. Was andere Enzyme betrifft, so wurde in Experimenten an Hunden die alk. Phosp. hierauf näher untersucht: ihre Isoenzymmuster konnten dabei zur humoralen und zellulären Abstoßungsreaktion korreliert werden (144); die Überprüfung des Ergebnisses am Menschen steht noch aus. Ferner wurden noch andere Enzyme (β -Glucuronidase, saure Phosp.) bei Abstoßungen untersucht (42): in 80 % der Fälle wiesen LDH und β -Gluc. ein zur Abstoßung korrelierendes Verhalten auf. Ferner konnte die Muramidase (= Lysozym; Molekulargewicht 15 - 17 000; intrarenale Lokalisation noch ungeklärt) bzw. ihr Urinspiegel mit der renalen Abstoßung korreliert werden (108); diese Beobachtung war reproduzierbar und wurde deshalb teilweise schon in die Diagnostik mitaufgenommen (86; 133; 141).

Es scheinen also einige Enzyme (LDH 5, Muramidase) gut mit der Abstoßungsreaktion zu korrelieren; sie erfordern jedoch zahlreiche Kontrollen sowie beim derzeitigen Standpunkt eine äußerst zurückhaltende Interpretation.

Enzymaktivität (uMol/g TG) im Nephron der gesunden Human-Niere

	LDH	MDH	GOT	ICDH	GlDH	alk.P.
Glomerulum	635	639	104	38	13	9,3
prox.Konvolut	1417	1593	285	288	90	91,4
dist.Konvolut	1217	1590	469	692	84	44,5
medulläre Streifen	1406	1765	335	625	82	47,3
äußere medul- läre Zone	1285	1313	378		55	13,5
innere medullä- re Zone	1132	1134	340		30	22,1
Papille	936	390	63		19	23,0

Enzymaktivität (uMol/g TG) im Nephron der gesunden Hundeniere

	LDH	MDH	GOT	GPT	GlDH	alk.P.
Glomerulum	620	802	67	12	11	32
prox.Konvolut	2494	2667	210	48	76	172
dist.Konvolut	2967	4150	397	44	83	11
medulläre Streifen	1474	2145	213	46		14
äußere medullä- re Zone	883		336	25	24	38
innere medullä- re Zone	544		359	20	23	12
Papille	577		60	10	16	6

G Literaturverzeichnis:

- 1 Abbott,W.M.; K.W.Sell
Functional in-vitro analysis as a key to organ storage, in: J.Norman: Organ perfusion and preservation, p. 487 (1968;New York)
- 2 Abbott,W.M.; K.W.Sell
Transpl. Proc. 1 (1969) 781
Organ preservation in transplantation
- 3 Abbott,W.M.;
Cryobiology 5 (1969) 454
Viability assays as applied to the cryopreservation of hearts and kidneys
- 4 Ackerman,J.R.; C. N. Barnard
Brit. J. Surg. 53 (1966) 525
Successful storage of kidneys
- 5 Alexander,J.L.; J. R. Dmochowski;J.E.Murray;N.P.Couch
Surg. 67 (1970) 944
Successful 24-hour renal perfusion-preservation with monitoring by surface electrometry during the storage interval
- 6 Allardyce,B.D.;
Ann. Surg. 174 (1971) 68
Intravascular fat in the renal cortex
- 7 Alpert,N.R.;
Ann.N.Y.Acad.Sci. 120 (1965) 995
Lactate production and removal and the regulation of metabolism
- 8 Aperia,A.C.;
Acta physiol. Scand. 75 (1969) 353
The influence of arterial pO_2 on renal tissue O_2
- 9 Ashby ,B.S.;F.O.Belzer
Nature 220 (1968) 794
Perfusion pressure in kidney preservation
- 10 Beisang,A.A.;E.F.Graham;R.C.Lillehei;R.H.Dietzman;
Transpl. Proc. 1 (1969) 862
Enzyme levels in the effluent perfusates from frozen kidneys
- 11 Belzer,F.O.;
Surg. Forum 15 (1964) 222
Factors influencing renal bloodflow during isolated perfusion

- 12 Belzer, F.O.; B.S.Ashby; G.L.Downes
Surg. Forum 19 (1968) 205
Lactic acid dehydrogenase as an index of future
function of cadaver kidneys during isolated
perfusion
- 13 Belzer, F.O.; B.S.Ashby; J.S.Huang; J.E.Dunphy
Ann. Surg. 168 (1968) 382
Etiology of rising perfusion pressure in iso-
lated organ perfusion
- 14 Belzer, F.O.; T.W.Reed; J.P.Pryor; S.L.Kountz; J.E.Dunphy
Surg. Gynecol. Obstet. 130 (1970) 467
Cause of renal injury in kidneys obtained from
cadaver donors
- 15 Benjamin, J.L.; K.W.Sell
Transpl. Proc. 3 (1971) 616
Assesment of renal function during isolated
in vitro perfusion
- 16 Bergmeyer, H.U.
Handbuch der enzymatischen Analyse
Band I und II (2.Auflage 1970; Chemie; Weinheim)
- 17 Berkowitz, H.; L.Miller
Surg. Gynecol. Obstet. 127 (1968) 1257
Renal function in the isolated perfused kidney
- 18 Bonini, P.A.; G. Ceriotti; C. Franzini
Clin. Chim. Acta 27 (1970) 415
Human urinary α -glucosidase as an index of kid-
ney tubular damage
- 19 Bonting, S.L.; V.E.Pollak; R.C.Muehrke; R.W.Kark
J. clin. Invest. 39 (1960) 1372 resp. 1381
Quantitative histochemistry of the nephron:
2) Alkaline phosphatase and 3) LDH activity in
man and other species
- 20 Bonting, S.L.; A.D.Tsoodle; H.DeBruin; B.R.Mayron
Arch. Biochem. Biophys. 91 (1960) 130
Quantitative histochemistry of the nephron:
7) Various phosphatases in the healthy human
kidney
- 21 Bowman, J.R.;
J. biol. Chem. 245 (1970) 1604
Gluconeogenesis in the isolated rat kidney
- 22 Bücher, Th.; P.Saum
Vortrag Dtsch. Kongreß f. ärztliche Fortbildung
(Berlin, 1958): intrazelluläre Enzymverteilung

- 23 Cahn ,R.D.;L.O.Kaplan;L.Devine;E.Zwilling
Science 136 (1962) 962
Nature and development of lactic dehydrogenases
- 24 Cain ,S.E.;
A.J.P. 209 (1965) 604
Appearance of excess lactate in anesthetized
dogs during anemic and hypoxic hypoxia
- 25 Clausen,G.;A.Stroresund
Acta physiol. scand. 83 (1971) 4
Electrolyte distribution and renal functions
in the hibernating hedgehog
- 26 Cohen ,B.E.;E.J.Folkman
Cell death and the measurement of oxygen con-
sumption in the isolated perfused organ;p.471
in J.Norman:Organ perfusion and preservation
(1968;New York;Meredith Corp.)
- 27 Collins,G.M.;M.Bravo-Shugarman;P.I.Terasaki
Transplantation 8 (1969) 821
Kidney preservation for transplantation:2) A
simple technique for 12h storage and air trans-
port
- 28 Collins,G.M.;M.Bravo-Shugarman;P.I.Terasaki
Lancet II (1969) 1219
Kidney preservation for transportation: Initial
perfusion and 30 hour ice storage
- 29 Collste,H.;C.Björken;A.Norr;C.Groth
Acta chir. Scand. 136 (1970) 349
Two-day renal preservation by hypothermia
- 30 Collste,H.;C.Björken;A.Norr;C.Groth
Acta chir. Scand. 137 (1971) 381
Renal preservation: Perfusion with albumin
solutions
- 31 Cooperman,A.M.;J.E.Woods;K.E.Holley;D.C.McIlrath
Mayo Clin. Proc. 46 (1971)193
Twenty-four-hour perfusion and storage of ca-
nine kidneys with albumin and electrolyte
solutions
- 32 Cooperman,A.M.;D.C.McIlrath;K.E.Holley;F.T.Maher
Surg. 70 (1971) 399
Successful 24-hour preservation of canine
kidneys
- 33 Couch ,N.P.;R.R.Meginn;M.K.Middleton e.a.
Surg. Gynecol. Obstet. 125 (1967) 521
Effects of ischemic interval and temperature on
renal hydrogen ion concentration at surface

- 34 Coyne ,J.A.;L.E.Rudolf;E.L.Allport
Perfusion pressure and its relation to vascular resistance in isolated canine kidneys,p.33 in J.C.Norman:Organ perfusion and preservation (1968;New York; Meredith Corp.)
- 35 Craddock,G.N.;S.M.Milton
Brit. J. Surg. 56 (1969) 382
Renal preservation: comparison of two methods of testing kidneys damaged by ischaemia
- 36 Dance ,N.;
Clin. Chim. Acta 27 (1970) 87
The excretion of N-acetyl- β -glucosaminidase by patients with renal disease
- 37 Dawson,D.M.;T.L.Goodfriend;N.O.Kaplan
Science 143 (1964) 929
Lactic dehydrogenases: functions of two types
- 38 Diskussionsbemerkungen
zu: Enzymaustritt, p.95 in: Praktische Enzymologie (Huberverlag,Bern,1967;Aktuelle Probleme der klinischen Biochemie)
- 39 Diskussionsbemerkungen
zu: Enzymology of kidney tissue,p. 153-156 in: Enzymes in urine and kidney, ed. Dubach (Huberverlag, Bern;1968;Aktuelle Probleme der klin. Biochemie)
- 40 Delan ,M.F.;
Fed. Proc. 24 (1965) Suppl. 275
Viability assays - a critique
- 41 Dubach,U.C.;
Experientia 21 (1966) 263
Quantitative distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase and isocitric dehydrogenase in the human nephron
- 42 Dubach,U.C.;
Schweiz. Med. Wochenschrift 37 (1970) 1568
Enzymbestimmungen in der nephrologischen Diagnostik
- 43 Dubach,U.C.;U.Schmidt
Enzym. biol. clin. 11 (1970) 32
Enzymology of human kidney
- 44 Feemster,J.A.;R.H.Dietzman;R.A.Ersenk;R.C.Lillehei
The effect of various methods of tissue preservation on morphology and enzyme structure of the canine kidney, p. 537 in J.C.Norman: Organ perfusion and preservation(1968;New York)

- 45 Fishman, W.H.; K.Kato; C.S.Austiss; S.Green
Clin.Chim.Acta 15 (1967) 435
Human serum β -glucuronidase; its measurement
and some of its properties
- 46 Garland, P.B.; E.A.Newsholme; P.J.Rendle
Biochem. J. 93 (1964) 665
Regulation of glucose uptake
- 47 Gimbrone, M.A.; R.H.Aster; R.S.Cotran; U.Corkery e.a.
Nature 222 (1969) 33
Preservation of vascular integrity in organs
perfused in-vitro with a platelet-rich medium
- 48 Goebell, H.; D.Pette
Enzym. biol. clin. 8 (1967) 461
Die intrazelluläre Verteilung von DPK- und
TPN-spezifischer Isocitratdehydrogenase
- 49 Groenewald, J.H.; H.W.Weber; J.J.van der Walt e.a.
Transpl. Proc. 3 (1971) 634
Successful 24-hour experimental kidney preservation
- 50 Grundmann, R.; G.Liebau; H.Wurzer; H.Pichlmaier
Res. exp. Med. 158 (1972) 211
Hypotherme pulsatile Perfusion von Hundenieren
(Verlauf des Laktat/Pyruvat-quotienten unter
verschiedenen experimentellen Bedingungen)
- 51 Grundmann, R.; Th.Landes; H.Pichlmaier
in Druck (Transplantation, 1972)
Hypothermic pulsatile perfusion of dog kidneys
- 52 Grundmann, R.; Th. Landes; H.Pichlmaier
in Druck (1972)
48-72 h-Konservierung von Hundenieren durch
hypotherme, nicht pulsierende Perfusion
- 53 Güttler, F.; J.Clausen
Biochem. J. 114 (1969) 839
Factors affecting the lactate dehydrogenase isoenzyme pattern of cultured kidney cortex cells
- 54 Hart, W.H.; W.G.Manax
Transpl. Proc. 3 (1971) 630
Viability, function and transportation of preserved canine kidneys
- 55 Harvey, R.B.; A.J.Pegg
A. J. P. 197 (1959) 181
Effect of temperature on function of isolated dog kidney

- 56 Hems ,D.A.;J.T.Brosnan
Biochem. J. 123 (1971) 391
Effects of metabolic acidosis and starvation on
the content of intermediary metabolites in rat
kidney
- 57 Henderson,A.H.;R.J.Craig;R.Gorlin;E.H.Sonnenblick
A. J. P. 217 (1969) 1752
Lactate and pyruvate kinetics in isolated per-
fused rat hearts
- 58 Hendry,W.F.;N.N.Struthers;W.D.Duguid;W.Hopkinson
Brit. J. Surg. 55 (1968) 431
Observations on kidneys stored by continous hypo-
thermic perfusion and hyperbaric oxygen
- 59 Hermann,T.J.;G.Turcotte;C.H.Sloan;C.W.O'Dell
Invest. Urol. 7 (1970) 493
Low flow perfusion, dilute serum and hyperbaric
oxygen in the preservation of canine kidneys
- 60 Hess ,R.T.;D.B.Menzel
Experientia 26 (1970) 1124
The effect of short term exposures to 100% oxy-
gen on the fine structure of proximal convoluted
tubules
- 61 Hoak ,J.C.;W.E.Connor;E.D.Warner
Arch. Path. 81 (1966) 136
Thrombogenic effects of albumin bound fatty acids
- 62 Hohorst,H.J.;F.M.Kreutz;Th.Bücher
Biochem. Z. 332 (1959) 18
Über Metabolitgehalte und Metabolitkonzentration
in der Rattenniere
- 63 Hohorst,H.J.;P.Arese;H.Bartels;D.Stratemann;H.Talke
Ann. N.Y.Acad.Sci. 120 (1965) 974
L-(+)-lactic acid and the steady state of cellu-
lar red/ox-systems
- 64 Horpascy,C.A.;A.Nemeth;K.Tanoky;T.Barakay;G.Petri
Z. ges. exp. Med. 155 (1971) 273
Enzymuntersuchungen während der hypothermen Per-
fusion der isolierten Hundenieren
- 65 Huang ,J.S.;G.L.Downes;F.O.Belzer
J. Lip. Research 12 (1971) 622
Utilization of fatty acids in perfused hypother-
mic dog kidney
- 66 Huckabee,W.E.;
J. Clin. Invest. 37 (1958) 244,255,264
Relationships of pyruvate and lactate during an-
aerobic metabolism:1)Effects of infusion of pyru-
vate,of glucose and of hyperventilation 2)Exer-
cise and formation of O₂debt 3)Effects of breath-
ing low-oxygen gases

- 67 Humphries, A.L.; R. Russell; L. Stodard; W.H. Moretz
Surg. 63 (1968) 646
Three-day kidney preservation: perfusion of kidneys with hypothermic, diluted blood or plasma
- 68 Humphries, A.L.;
Transplantation 5 (1966) 1138
Organ preservation: a review
- 69 Humphries, A.L.;
Cryobiology 5 (1969) 445
The role of perfusate in organ preservation
- 70 Husemann, B.;
Langenbeck's Arch. Chir. 324 (1969) 247
Funktionsprüfungen der isolierten Niere
- 71 Jacobsen, N.O.;
Histochemie 20 (1969) 250
The histochemical localization of lactic dehydrogenase isoenzymes in the rat nephron by means of an improved polyvinyl chlorid method
- 72 Kamp Nielsen, V.;
Adaptation of the synthesis of LDH to hypoxia in acute renal failure, p. 170 in U. Dubach: Enzymes in urine and kidney (Huber Verlag, Bern; 1968 ; Aktuelle Probleme d. klin. Biochemie)
- 73 Kane , J.F.; E.C. Edwards;
Brit. J. Urol. 38 (1966) 664
Renal vascular shutdown during perfusion of isolated kidney
- 74 Kaplan, N.O.; J. Everse; J. Admiral
Ann. N.Y. Acad. Sci. 151 (1968) 382, 400
Significance of substrate inhibition of dehydrogenases / Nature of multiple molecular forms of enzymes
- 75 Kemp , E.; T. Laursen
Acta path. microbiol. scand. 45 (1959) 7
On the liberation of kidney enzymes by recirculation after total ischaemia
- 76 Kiser , W.S.; M.O. Magnusson; T.C. McMaughlin; C.B. Hewitt
J. of Urol. 105 (1971) 779
Preservation of human cadaver kidneys for transplantation
- 77 Kohn , J.; H. Ross
Transplantation 11 (1971) 461
LDH output of the excised kidney as an index of acute renal ischaemic damage

- 78 Krebs ,H.A.;D.A.Bennett;P.deGasquet; T.Gascogne
Biochem. J. 86 (1963) 22
Renal gluconeogenesis
- 79 Krebs ,H.A.;T.Gascogne;B.N.Notton
Biochem. J. 102 (1967) 275
Generation of extramitochondrial reducing power
in gluconeogenesis
- 80 Ladaga,L.G.;D.C.Nabseth e.a.
Ann. Surg. 163 (1966) 553
Preservation of canine kidneys by hypothermia
and hyperbaric oxygen: long-term survival of
autografts following 24h storage
- 81 Ladaga,L.G.;D.C.Nabseth;R.A.Deterling
Kidney preservation by means of hypothermia and
hyperbaric oxygen without perfusion, p. 677 in
J.C.Norman: Organ perfusion and preservation
(1968;New York; Meredith Corp.)
- 82 Lambotte,L.;
Europ. Surg. Res. 2 (1970) 241
Hepatic cell membrane potential: a new assay for
preserved organs viability
- 83 Lannon,S.G.;K.T.Tukaram;J.A.Oliver;K.J.McKinnon
Surg. 124 (1967) 999
Preservation of kidneys assessed by a biochemi-
cal parameter
- 84 Lee ,J.B.;H.M.Peter
A.J.P. 217 (1969) 1464
Effect of oxygen tensions on glucose metabolism
in rabbit kidney cortex and medulla
- 85 Leichtweiss,H.P.; W.Reschke;D.W.Lübbers
Pflügers Arch. 309 (1969) 328
The oxygen supply of the rat kidney: measure-
ments of intrarenal pO_2
- 86 Lemperle,G.;W.Michaelis;M.Mitratsch
Transpl. Proc. 3 (1971)
Prolonged survival of kidney allografts after
perfusion with RNA or DNA
- 87 Levy ,M.N.;
A. J. P. 197 (1959) 1111
Oxygen consumption and blood flow in the hypo-
thermic, perfused kidney
- 88 Levy ,M.N.;
Ann. N. Y. Acad. Sci. 120 (1965) 1029
Lactate uptake by the intact kidney

- 89 Liebau, G.; H. J. Klose; H. Fischbach; H. Pichlmaier
Surg. 70 (1971) 459
Simple test for viability of the hypothermic pulsatile perfused dog kidney
- 90 Liebau, G.; R. Grundmann; H. Pichlmaier
Langenbecks Arch. (1972) in Druck
Vitalitätskriterien isoliert perfundierter Hundenieren
- 91 Liu, W. P.; A. L. Humphries; R. Russell; L. D. Stodard; W. Noretz
Ann. Surg. 173 (1971) 748
48-hour storage of canine kidneys after brief perfusion with Collins-solution
- 92 Loekkegaard, H.;
Acta med. scand. 189 (1971) 21
The effect of papaverine, lidocaine and heparine on the vascular resistance in hypothermic kidney perfusion
- 93 Loekkegaard, H.; G. Boysen; N. Gyrd-Hansen e.a.
Acta med. scand. 189 (1971) 521
Kidney preservation by hypothermia using a perfusate with "intracellular ion composition"
- 94 Lotke, P. A.; S. L. Schwartz
Surg. 67 (1970) 488
Studies on the function and biochemical changes during kidney preservation
- 95 MacIntyre, J.; J. N. Norman e.a.
Brit. J. Surg. 56 (1969) 382
The effect of CO₂ on the renal circulation
- 96 Maginn, R. R.;
Brit. J. Surg. 55 (1968) 15
A rapid test for tissue viability prior to transplantation
- 97 Malinin, T. J.; V. P. Perry
Cryobiology 4 (1967) 104
A review of tissue and organ viability assay
- 98 Mandelbaum, J.; W. H. Burns
J. A. M. A. 191 (1965) 657
Pulsatile and nonpulsatile blood flow
- 99 Mattenheimer, H.; V. E. Pollak; H. DeBruin
Enzym. biol. clin. 4 (1964) 107
Quantitative histochemistry of the nephron:
9) Distribution and activity of various enzymes in the kidney of the dog

- 100 Mattenheimer, H.;
 Enzymology of kidney tissue, p. 119 in: Aebi e.
 a.: Enzymes in urine and kidney (Huberverlag,
 Bern;1968;Aktuelle Probleme d. klinischen Bio-
 chemie, vol. 2)
- 101 Mattenheimer, H.;V.E.Pollak;R.C.Muehrke
 Nephron 7 (1970) 144
 Quantitative enzyme patterns in the nephron of
 the healthy human kidney
- 102 Messmer,K.;M. Schmidt-Mende
 Z. ges. exp. Med. 139 (1965) 468
 Die Kältevasokonstriktion der Nierengefäße
- 103 Moscona, A.;O.A.Trowell;E.N.Willner
 Cells and tissues in culture (1965;academic Press)
- 104 Nagel ,W.;F.Willig;F.H.Schmidt
 Klin. Wschr. 42 (1964) 447
 Über die AS-arylamidase (sog. LAP) - aktivität
 im menschlichen Serum
- 105 Najarian, J.S.; e.a.
 Ann. Surg. 164 (1966) 398
 Protection of the donor kidney during homotrans-
 plantation
- 106 Nishiistsutsuji-Uwo J.M.;B.Ross;H.A.Krebs
 Biochem. J. 103 (1967) 852
 Metabolic activities of the isolated perfused
 rat kidney
- 107 Nizet ,A.;P.Lerebvre;J.Crabbe
 Pflügers Arch. 323 (1971) 11
 Control by insulin of sodium, potassium and
 water excretion by the isolated dog kidney
- 108 Koble ,R.E.;J.S.Najarian;H.D.Brainerd
 Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 120 (1965) 737
 Urine and serum lysozyme measurement in renal
 homotransplantation
- 109 Norman, J.N.;T.T.Irvin;J.McIntyre;J.R.Shrearer
 Brit. J. Surg. 57 (1970) 299
 The effect of oxygen on the normal and the under-
 perfused canine kidney
- 110 Olson ,R.E.;
 Ann. Internal Med. 59 (1963) 960
 "Excess lactate" and anaerobismus
- 111 Olsson,C.A.;W.Bauditz;W.S.Kiser;Y.Nose;S.Kakamoto
 J. of Urol. 102 (1969) 386
 Successful 24-hour canine preservation

- 112 Pegg ,D.E.;J.Farrant
Cryobiology 6 (1969) 200
Vascular resistance and edema in the isolated
rabbit kidney perfused with a cell-free solution
- 113 Pichlmaier, H.;
Langenbecks Arch.Klin. Chir. 315 (1966) 1
Die Bedeutung der Lymphozyten für die Homotrans-
plantation
- 114 Prout ,G.R.;
Surg. 56 (1964) 283
Serum and urinary lactic dehydrogenase in patients
with renal homotransplants
- 115 Raab ,W.;
Enzymes and isoenzymes in urine, p. 17 in Aebi
e.a.:Enzymes in urine and kidney (Huberverlag,
Bern;1968;Aktuelle Probleme d. klin. Biochemie,
vol. 2)
- 116 Reinhardt, H.W.;H.Klose e.a.
Pflügers Arch. 297 (1967) 711
Ein Nierenpräparat zur Erleichterung komplizier-
ter Funktionsuntersuchungen
- 117 Report of meeting
Surg. 69 (1971) 321
Workshop on Organ Preservation
- 118 Ringoir,S.;
Correlations between kidney, serum and urinary
enzymeactivity, p. 177 in Aebi e.a.: Enzymes in
urine and kidney(Huberverlag, Bern;1968; vol 2
Aktuelle Probleme d. klin. Biochemie)
- 119 Rochman,H.;H.Lath;H.J.Levell
Biochem. J. 102 (1967) 48 resp. 44
The effect of temperature and anoxia of kidney
on the subsequent oxidative phosphorylation of
mitochondria;the effect of temperature and anoxia
of rat kidney slices on their subsequent respi-
ration
- 120 Rosenthal, T.B.;
J. biol. Chem. 173 (1948) 25
The effect of temperature on the pH of blood and
plasma in vitro
- 121 Rudolf,L.E.;J.Hahn;A.O'Dell
Transpl. Proc. 3 (1971) 626
Perfusate composition in organ preservation
- 122 Rudolph,L.A.;A.Schaeffer;R.E.Dutton;R.Lyons
J.Lab. clin. Med. 49 (1957) 320
Serum glutamic oxalacetic transaminase in experi-
mental tissue injury

- 123 Ruile ,K.;A.Rickart;R.Braun;R.W.Winters
Transpl. Proc. 3 (1971) 619
Hyperbaric kidney preservation with gaseous media
- 124 Scaglione, P.R.;R.B.Dell;R.W.Winters
A. J. P. 209 (1965) 1193
Lactate concentration in the medulla of rat kidney
- 125 Schinner, E.K.;J.L. Luft
Invest. Urol. 3 (1966) 355
The metabolic utilization of some hexoses by normal and stressed canine kidney
- 126 Schmidt, E.;
Enzym-Austritt, p.93 in U.Dubach: Praktische Enzymologie (Huberverlag, Bern;1967;Aktuelle Probleme d. klin. Biochemie, vol. 1)
- 127 Schmidt, U.;U.C.Dubach
Z.ges.exp. Med.151(1969)93 resp. 155(1971)340
Differential enzymatic behaviour of single proximal segments of the superficial and juxtamedullary nephron:1)alk. pphosphatase, Mg^{++} and Na^{+} K^{+} -ATPase 2)lactic, isocitric, malic, glutamic and glucose-6-phosphate dehydrogenases
- 128 Schwartz, F.;
Proc. cent. Soc. clin. Res. 39 (1966) 71
The source of urinary enzymes
- 129 Scott ,D.T.;A.Morley;J.Swinney
Brit. J. Surg. 56 (1969) 382
Aetiology of raised vascular resistance during prolonged hypothermic perfusion of canine kidneys
- 130 Segal ,S.;L.Smith;M.Genel;P.Holtzapfel
Nature 222 (1969) 387
Tubular transport by human kidney stored at 4 C
- 131 Seil ,H.L.;
Cryobiology 4 (1967) 133
Viability assay of organized tissues and organs
- 132 Semb ,G.;J.Krog;K.Johansen
Acta Chir. Scand. Suppl. 253 (1966) 196
Renal metabolism and blood flow during local hypothermia, studied by means of renal perfusion in situ
- 133 Shehadeh, J.H.;C.B.Carpenter;C.M.Montorio;J.P.Merili
Arch. Intern. Med. 125 (1970) 850
Diagnosis and management of rejection in allografted kidneys

- 134 Shorman, J.K.;
Cryobiology 4 (1967) 144
Viability assay of tissues and organs
- 135 Siesjö, K.; L. Nilsson
Scand. J. clin. Lab. Invest. 27 (1971) 83
The influence of arterial hypoxemia upon labile
phosphates and upon extra- and intracellular
lactate and pyruvate concentrations in the rat
brain
- 136 Terasaki, P.I.; D.C. Martin; R.B. Smith
Transplantation 5 (1967) 76
A rapid test to screen cadaver kidneys for
transplantation
- 137 Terasaki, P.I.;
Transplantation: Transplant Newsletter, Issue 6
June 9 1970
Transplantation and storage
- 138 Thiele, K.G.; H. Wattenheimer
Z. klin. Chem. klin. Biochem. 6 (1968) 132
The isoenzymes of lactic dehydrogenase in the
nephron of the healthy human kidney
- 139 Thorling, E.B.; K. Jensen
Acta path. microbiol. scand. 66 (1966) 426
The LDH in various organs of the rabbit in an-
aemia, hypoxia and after cobalt administration;
with special reference to changes in the iso-
enzyme pattern of the kidney
- 140 Thureau, K.;
Amer. J. Med. 36 (1964) 698
Renal haemodynamics
- 141 Troup, J.L.; R.L. Malrow
Transplantation 5 (1967) 43
Transplantation disease, renal lysozyme and aging
- 142 Voigt, J.P.; F. Schaefer
Amer. J. Path. 53 (1968) 1
On the molecular pathology of ischemic renal
cell death
- 143 Voss, R.; A.E. Rickart; K. Ruile; W. Vogell; W. Kunz
Klin. Wschr. 48 (1970) 172
Zellvitalität nach hyperbarer Xe-Konservierung
von Kaninchennieren über einen Zeitraum von
8 Tagen bei 2°C
- 144 van Breda Vriesman, P.J.C.; M. Vink; R.G. Willingham
Transplantation 5 (1967) 420
Histochemical studies to canine renal homotrans-
plants with special reference to alkaline phos-
phatase and its isoenzymes

- 145 Waugh ,W.H.;T.Kubo
 Amer. Soc. Nephrol. 19 (1967)70
 Perfusion and transplatation
- 146 Ward ,M.J.;J.A.and J.J. van Zyl e.a.
 J. Surg. Res. 9 (1969) 173
 Functional characterization of isolated blood-
 less perfusion in baboon kidneys with oxygen
 and helium gases
- 147 Webb ,W.R.;
 Cryobiology 4 (1967) 130
 Viability assay at the organ functional level
- 148 Weidemann, M.J.;H.A.Krebs
 Biochem. J. 112 (1969) 149
 The fuel of respiration of rat kidney cortex
- 149 Weissmann, G.;
 Fed. Proc. 23 (1964) 1038
 Labilization and stabilization of lysosomes
- 150 Whittam,R. R.E.Davies
 Biochem. J. 55 (1953) 880
 Transport of water, sodium, potassium and oxo-
 glutarat by kidney cortex slices
- 151 Wilkens,H.;W.Regelson;F.S.Hoffmeister
 New Engl. J. Med. 267 (1962) 443
 The physiologic importance of pulsatile blood
 flow
- 152 Woods ,J.E.;A.M.Cooperman;K.E.Holley
 Arch. Surg. 101 (1970) 605
 Problems in 48- to 72-hour preservation of
 canine kidneys
- 153 Woods ,J.E.;
 Arch. Surg. 102 (1971) 614
 Successful three- to seven-day preservation of
 canine kidneys
- 154 Woods ,J.E.;K.E.Holley;A.di Pasquale
 Transplantation 6 (1971)
 Comparison of methods of 24 h preservation of
 canine kidneys using the same perfusate
- 155 van Zyl,J.J.;J.H.Groenewald;G.P.Murphy
 Cryobiology 6 (1970) 493
 The influence of hyperbaric O₂toxicity on
 renal preservation

An dieser Stelle möchte ich dem Direktor der Chirurgischen Universitätsklinik, Herrn Prof.Dr. Dr.h.c.R.Zenker bzw. Herrn Prof.Dr.G.Heberer für die Überlassung eines Arbeitsplatzes an seiner Klinik danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr.Dr.Heinz Pichlmaier, der mir das Thema dieser Arbeit überließ, bei der gedanklichen Abfassung wertvolle Anregungen gab, und darüber hinaus wesentliche medizinische Aspekte vermittelte.

Sehr herzlich möchte ich auch Herrn Dr.G.Liebau danken für seine wissenschaftliche Betreuung, seine Mithilfe und anregenden Diskussionen bei der Durchführung der Experimente; ferner danke ich Herrn Dr.R.Grundmann für seine Hilfe bei den Operationen.

Darüber hinaus danke ich Frau Nemati (Labor Prof.Edel) für die Bestimmung der Elektrolyte, Fräulein Schröder-Etzdorf für die freundliche Unterstützung sowie Frau Fertl für die Ausgestaltung der Arbeit.

Lebenslauf

Am 9.März 1949 wurde ich, Hannes Wurzer, als einziges Kind des Stadtgartendirektors Josef Wurzer und seiner Ehefrau Rosa, geborene Obert, in München geboren.

Ab September 1955 besuchte ich in München die Volksschule an der Gebelestraße, ab 1959 das Neue Realgymnasium, das später in Albert-Einstein-Gymnasium umbenannt wurde. Dort bestand ich im Juli 1968 das Abitur.

Ab Oktober 1968 studierte ich an der Ludwig-Maximilians-Universität München Humanmedizin; 1969 legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung, 1971 die ärztliche Vorprüfung ab.

Von Oktober 1972 bis Juli 1973 studierte ich das 4. und 5. klinische Semester an der Universität Zürich.

Ab Oktober 1973 war ich wieder an der Universität München immatrikuliert, wobei ich neben dem Studium der Humanmedizin noch das der Psychologie begann.

Vom 22.April bis 7.August 1974 legte ich die ärztliche Prüfung ab.

Seit 1.September 1974 arbeite ich als Medizinalassistent in der 1.Medizinischen Abteilung des Krankenhauses München-Harlaching auf der Intensivstation.

